

ALMA MATER STUDIORUM-UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA
SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**PROGETTO E REALIZZAZIONE DI UN SISTEMA DI
CATALOGAZIONE DI LESIONI NEOPLASTICHE POLMONARI PER
LA VALIDAZIONE VISUALE DI MAPPE PERFUSIONALI DA
TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA**

Elaborato in
Reti Logiche LA

Relatore:

Prof. Alessandro Bevilacqua

Presentata da:

Alessia Bene

Correlatori:

Ing. Silvia Malavasi
Prof. Giampaolo Gavelli
Dott. Domenico Barone

Sessione II

Anno Accademico 2014-15

“Il profondissimo desiderio di conoscenza dell'uomo è giustificazione sufficiente per il persistere della ricerca. Il nostro obiettivo non è niente di meno di una descrizione completa dell'universo in cui viviamo.”

STEPHEN HAWKING

INDICE

Introduzione	4
1. I Polmoni e la classificazione delle neoplasie	8
1.1 I Polmoni - caratteristiche strutturali e vascolari	8
1.1.1 Le Neoplasie polmonari	11
1.1.2 L'Angiogenesi	13
1.1.3 Sintomi, Diagnosi e Terapie.....	13
1.2 La Tomografia computerizzata (TC)	16
1.3 La TC perfusionale (TCp)	21
1.4 Il mezzo di contrasto (MdC).....	23
1.5 I parametri di acquisizione della TCp.....	24
1.6 Le ROI	27
1.7 Le Mappe Colorimetriche.....	27
2. Progettazione dello studio e del catalogo	29
2.1 Scopo del progetto.....	29
2.2 Il campione esaminato e il protocollo di ricerca implementato	29
2.3 Lo Studio delle lesioni e segmentazione delle ROI	30
2.4 Programmi e strumenti utilizzati	33
3. Realizzazione dello studio e del catalogo.....	36
3.1 Impostazione del catalogo	36
3.1.1 Classificazione della difficoltà dell' esame: facile, media, difficile.....	37
3.1.2 Creazione delle sequenze di ROI.....	40
3.1.3 Creazione dei file batch.....	44
3.1.4 Creazione delle mappe colorimetriche.....	45
3.2 Organizzazione dei dati	46
3.3 Sistema di catalogazione.....	47
4. Risultati	54
4.1 Statistiche dei casi catalogati	54
4.2 Tipologie di artefatti	62
4.3 Ulteriori considerazioni sui casi catalogati.....	67
5. Conclusioni e lavori futuri.....	70
6. Bibliografia	72
7. Ringraziamenti	74

Introduzione

Negli ultimi venti anni i progressi della ricerca hanno permesso di stabilire come ogni tumore possieda precise caratteristiche molecolari che, come una firma, lo identificano e lo diversificano da paziente a paziente.

Combattere il cancro è la sfida più grande che la medicina abbia mai dovuto affrontare, poiché non si tratta di una sola malattia, *ma di tante malattie diverse in quanto* dipende dall'organo colpito, dal tipo di tessuto, ecc. *Nella maggior parte dei casi, non si conoscono esattamente le cause che lo generano*, ogni tumore ha la propria storia.

La genesi comune è l'alterazione del DNA di una sola cellula. Si rompe l'ordine dell'organismo e la cellula comincia a dividersi e riprodursi in maniera incontrollata. Normalmente, le cellule sane hanno un meccanismo biologico che consente loro di moltiplicarsi per un numero limitato di volte, per poi invecchiare e infine morire. La cellula tumorale, attraverso la riprogrammazione del metabolismo, altera questo meccanismo e si riproduce per un numero infinito di volte. Le difese immunitarie, normalmente abili nel difendere l'organismo, vengono disarmate dalle cellule tumorali perché, sovente, queste cellule si “aggrappano”, o nascondono, dietro le cellule sane e, quando le cellule malate imparano a lasciare il tessuto su cui hanno avuto origine, il tumore diventa una malattia sistemica, di tutto il corpo, poiché nascono colonie in organi lontani da quello di origine, denominate “metastasi”.

L'Oncologia, dunque, per progredire non può che avere una componente sperimentale, in cui l'assistenza clinica e la ricerca devono procedere congiuntamente. I progressi contro le malattie neoplastiche richiedono una costante interazione tra lo studio dell'efficacia dei trattamenti al paziente e la ricerca in ambito clinico e biologico.

In Romagna, un nodo centrale dell'eccellenza Oncologica della Regione è l'Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei tumori (IRCCS-IRST) di Meldola che, da anni, coniuga questa filosofia attivando ricerca traslazionale. In questo contesto, nel 2010 l'Istituto ha siglato un accordo con l'Università di Bologna per l'avvio di un progetto denominato “PERFECT” (“Analisi automatica dei parametri di PERFusione Epatica e polmonare attraverso la ricostruzione di immagini CT-4D”) il

quale, attraverso la collaborazione tra medici, biologi ed ingegneri, si pone come obiettivo quello di garantire il diretto trasferimento dei risultati della ricerca di laboratorio all'ambito clinico, per alla cura del paziente.

In particolare, il progetto di ricerca si focalizza sullo sviluppo di una metodica e di un software per lo studio quantitativo e automatico dei parametri di perfusione epatica e polmonare.

Vi collaborano:

- i radiologi dell'Unità Operativa di diagnostica per immagini (responsabile il Dott. Domenico Barone e consulente scientifico il Prof. Giampaolo Gavelli);
- gli assegnisti, i dottorandi e i dottori di ricerca del Computer Vision Group (CVG) e del Dipartimento di Informatica (DISI) della Scuola di Ingegneria e Architettura (responsabile il Prof. Alessandro Bevilacqua);
- i tirocinanti e i tesisti del Corso di Laurea in Bioingegneria della medesima Scuola, con sede a Cesena.

Questa Tesi, in coerenza con le finalità del progetto, si focalizza sullo studio di possibili applicazioni metodologiche dell'analisi d'immagini in TC perfusionali, allo scopo di misurare e catalogare, per un campione di pazienti oggetto d'esame, le differenze morfologiche e funzionali delle neoplasie in atto, confrontarle con i parametri dello studio perfusionale, per giungere ad una migliore comprensione della struttura e della funzionalità di questa tipologia tumorale.

L'obiettivo è di classificare la malattia non più solo in base al distretto colpito, ma studiarne le peculiarità, misurandone le alterazioni specifiche, per fini diagnostici e prognostici: tasso di accrescimento, tempo di raddoppiamento della neoplasia, grado di malignità, presenza di invasione vascolare. Tutto ciò consente di mettere a punto terapie mirate, sempre più efficaci in quanto centrate su uno specifico bersaglio.

La ricaduta clinica è quella della cura personalizzata, e quindi più efficace, rivolta a pazienti che attualmente sono sottoposti ad un percorso terapeutico standardizzato, relativamente omogeneo ed uguale per tutti. Questa è, senza dubbio, la nuova frontiera della ricerca per tutti i tipi di neoplasie, per gli anni futuri.

La Tesi, nel suo nucleo principale, è composta da quattro capitoli, oltre all'introduzione, le conclusioni ed una nota bibliografica.

Il Capitolo 1 inizia con una descrizione strutturale del polmone e si introducono le nozioni di vascolarizzazione e di angiogenesi; successivamente, si descrivono le caratteristiche eterogenee delle neoplasie polmonari definendone: sintomatologia, modalità di diagnosi e misure terapeutiche generali adottate. Infine, viene spiegato il procedimento di ricostruzione dell'immagine attraverso la Tomografia Computerizzata perfusionale e le metodologie, le tecniche di supporto all'analisi utilizzate per l'individuazione del grado di perfusione del tumore.

Nel Capitolo 2 si affronta la progettazione dello studio, definendone in primo luogo lo scopo ed il protocollo di ricerca da seguire. Il primo passo, realizzato attraverso una serie di incontri preliminari con i medici radiologi del reparto dell'IRCCS-IRST, ha consentito di giungere alla definizione di:

- un protocollo di acquisizione delle immagini e dei dati dei pazienti, rappresentanti il campione;
- una procedura per l'organizzazione e l'archiviazione del materiale, oggetto di elaborazione;
- un protocollo di interfacciamento con il medico radiologo per lo scambio di informazioni sulle lesioni evidenziate dallo studio perfusionale.

Inoltre, è stata definita la modalità di composizione del campione da analizzare, stabilendo tutti i requisiti che i pazienti devono soddisfare per essere ritenuti idonei ed entrare a far parte dei casi oggetto di studio.

Infine, sono stati scelti i software informatici ritenuti utili per la gestione delle immagini e per l'interfacciamento con i medici radiologi, quali PmsDView, ImageJ e GUI.

Nel Capitolo 3 si descrive lo studio e l'implementazione del progetto, vengono presentate le specifiche adottate per l'impostazione del lavoro e la gestione dei dati, si descrivendo le logiche di supporto al sistema di catalogazione e l'organizzazione dell'archiviazione dei dati elaborati.

Il Capitolo 4 è dedicato alla discussione dei risultati ottenuti. Si presenta il lusinghiero risultato raggiunto dal *team* di studio: la validazione dell'indice di errore μ_e , che si è rivelato in grado di misurare la qualità dei valori perfusionali calcolati. Si sviluppano statistiche, corredate da grafici, che utilizzano i dati elementari raccolti nel catalogo, per ogni caso studiato. C'è un focus sui casi assoggettati a *follow up* e su quelli inutilizzabili o revisionabili. Infine, sono esposte considerazioni riguardo agli artefatti, individuati sulle immagini analizzate ed inserite nel catalogo, con indicazione delle modalità messe in atto per il loro superamento.

Infine, nel Capitolo 5 si traggono le conclusioni del lavoro realizzato e si forniscono alcuni spunti riguardanti possibili miglioramenti e futuri argomenti di approfondimento.

1. I Polmoni e la classificazione delle neoplasie.

1.1 Polmoni - caratteristiche strutturali e vascolari

I polmoni sono due organi simmetrici, spugnosi, posti nel torace. La loro funzione è quella di trasferire l'ossigeno respirato al circolo sanguigno e depurare il sangue dall'anidride carbonica prodotta dall'organismo. In dettaglio, l'aria entra nell'organismo attraverso naso e bocca, passa poi nella trachea, un condotto cartilagineo tubuliforme che si divide in due rami, uno diretto al polmone destro e uno al polmone sinistro. Questi due rami principali si dividono in altri rami più piccoli chiamati bronchi che, a loro volta, si dividono in tubi ancora più piccoli, i bronchioli. Al termine dei bronchioli si trovano gli alveoli, una sorta di "sacchetti" nei quali avviene lo scambio di ossigeno con il sangue: grazie ai moltissimi capillari presenti negli alveoli, infatti, l'ossigeno introdotto con la respirazione entra nel circolo sanguigno e può raggiungere tutte le cellule, mentre l'anidride carbonica, prodotta dalle cellule, entra negli alveoli e viene espulsa con l'espirazione [1]. In figura n.1 è rappresentata la struttura polmonare in sezione trasversale.

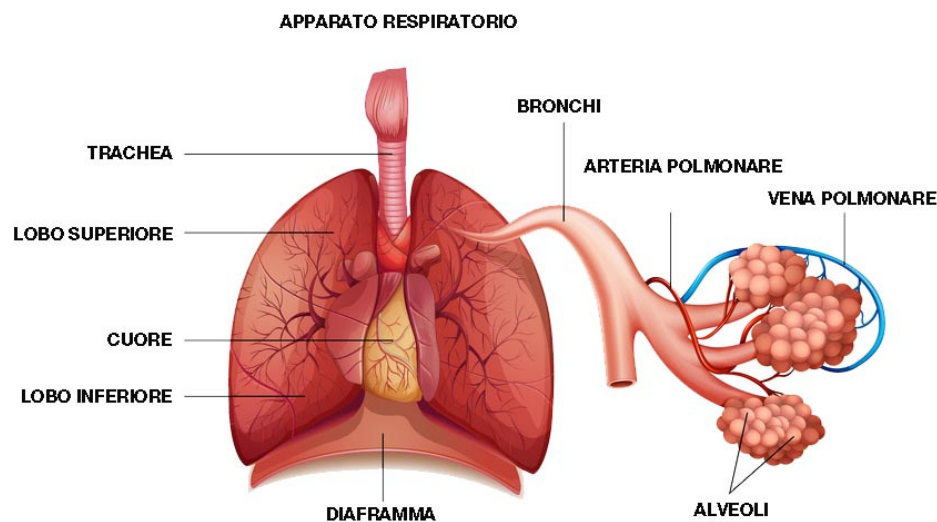


Figura 1: struttura polmonare

Il sangue che irrori i polmoni proviene da due sistemi vascolari estremamente diversi:

- Il circolo polmonare che costituisce la piccola circolazione;
- il circolo bronchiale che fa parte della grande circolazione.

Il circolo polmonare inizia nella valvola polmonare che rappresenta l'uscita del cuore destro e arriva fino agli orifizi delle vene polmonari, nella parete dell'atrio sinistro che rappresenta l'entrata nel cuore sinistro [1].

Sistema dei vasi polmonari

I due rami, destro e sinistro, dell'arteria polmonare entrano nei polmoni a livello dell'ilo, si ramificano immettendosi nei rami bronchiali, seguendo le loro suddivisioni, fino a dare arteriole terminali che decorrono lungo i bronchioli e i condotti alveolari. Questi minuscoli vasi si risolvono infine in una rete capillare contenuta nella parete degli alveoli. Dalla rete capillare perialveolare hanno origine le venule che decorrono nei setti interlobulari finché si riuniscono in rami venosi di maggior calibro i quali, per la maggior parte, accompagnano i bronchi, decorrendo in genere sul lato opposto a quello dove si trova l'arteria. Si costituiscono infine due vene polmonari per ciascun polmone; esse escono dall'ilo e vanno ad aprirsi nell'atrio sinistro del cuore [1].

Sistema dei vasi bronchiali

Le arterie bronchiali originano dall'aorta toracica in un numero pari a tre rami di cui uno per il polmone destro e due per il sinistro. Dopo aver dato origine a rami per la formazione del peduncolo (costituito da vasi, nervi e linfonodi), le arterie bronchiali penetrano nel polmone e si ramificano, seguendo le divisioni dell'albero bronchiale, fino ai ramuscoli più distali che vascolarizzano la parete dei bronchi intralobulari. I vasi bronchiali formano, nella parete dei bronchi, due reti capillari di cui una superficiale per la mucosa e una profonda per i muscoli e le ghiandole. Le ramificazioni dell'arteria bronchiale arrivano fino ai lobuli e formano un sistema capillare che è in comunicazione con quello dato dai rami dell'arteria polmonare.

I capillari del sistema bronchiale si riuniscono in vene di cui quelle che provengono dai bronchi più sottili sboccano nelle vene polmonari, mentre quelle dei bronchi più grossi si aprono nelle vene bronchiali; in queste ultime sfociano anche rami venosi che provengono dalla parete dei vasi polmonari, dal connettivo interstiziale, dai linfonodi dell'ilo e dalla faccia posteriore del pericardio.

Le vene bronchiali si riuniscono, uscendo dall'ilo, in uno o due tronchi che sboccano di solito nelle vene azigos ed emiazigos. I due sistemi vascolari non sono completamente indipendenti. Innanzitutto vi è comunicazione tra essi in

quanto alcune delle vene bronchiali sboccano nelle vene polmonari; inoltre, rami delle arterie polmonari sono uniti a rami delle arterie bronchiali da piccoli tronchi anastomotici, che possono anche comunicare con le vene bronchiali; infine, il sangue dei capillari alveolari può anche riversarsi in piccola parte nelle venule bronchiali anziché in quelle polmonari [1].

Vasi linfatici

I vasi linfatici del polmone sono numerosi. Si distinguono in: linfatici superficiali, che si trovano al di sotto della pleura e fanno capo ai linfonodi dell'ilo e del peduncolo del polmone e linfatici profondi, che originano dalla parete dei bronchi e dei vasi, attraversano piccoli linfonodi intrapolmonari e fanno capo anch'essi ai linfonodi dell'ilo e del peduncolo del polmone. Questi linfonodi fanno parte del sistema dei linfonodi bronchiali [1].

Nervi

I nervi del polmone derivano dai plessi polmonari anteriore e posteriore e sono formati dai rami del nervo vago e dell'ortosimpatico toracolombare. Essi accompagnano i bronchi e sul loro decorso presentano piccoli gangli. Sia i rami del vago che dell'ortosimpatico contengono fibre broncocostrittrici e vasodilatatrici. Durante l'inspirazione prevalgono l'azione vasodilatatrice del vago e broncodilatatrice dell'ortosimpatico; durante l'espirazione quella vasocostrittrice dell'ortosimpatico e broncocostrittrice del vago [1]. In figura 2 si evidenzia la vascolarizzazione polmonare, in particolare, in azzurro l'arteria polmonare, in rosso le vene polmonari.

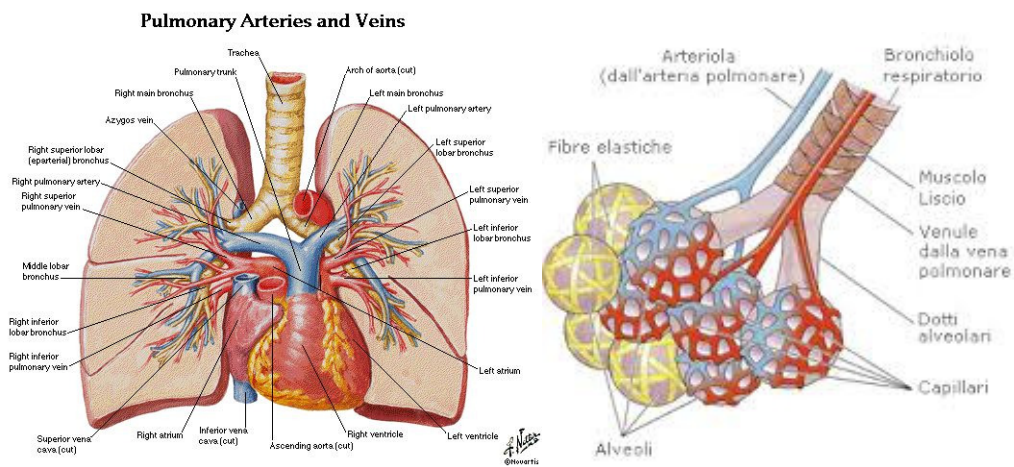


Figura 2: vascolarizzazione polmonare

1.1.1 Le Neoplasie Polmonari

Le neoplasie polmonari, sono un gruppo di neoformazioni eterogenee che differiscono l'una dall'altra per molte caratteristiche. Esse hanno in comune la natura tumorale e la sede di sviluppo iniziale , cioè il tratto respiratorio inferiore, ma sono costituite da una grande varietà di forme primitive.

Tra i vari Istotipi vi sono:

- Il carcinoma a cellule squamose,
- L'adenocarcinoma,
- Il carcinoma anaplastico a piccole cellule,
- Il carcinoma anaplastico a grandi cellule
- Il carcinoma adenosquamoso

che sono comunemente raggruppati insieme e, globalmente, denominati con il termine: carcinoma broncogeno o carcinoma bronchiale.

Gli studi sull'evoluzione naturale della malattia indicano che in genere si tratta di malattia definita cronica. Infatti, Il tumore inizia nella mucosa bronchiale, come unica cellula maligna, si duplica più volte sino a divenire una massa di cellule cancerose rilevabili in una radiografia del torace solo quando raggiungono la dimensione di circa 1 cm di diametro (pari ad un miliardo di cellule neoplastiche). Dato che sono necessarie 30 duplicazioni per passare da una ad un miliardo di cellule e che il tempo medio di ogni duplicazione è di circa 3 o 4 mesi, decorrerà un intervallo di tempo variabile dai 7 ai 10 anni perché il carcinoma sia rilevabile. Durante questo tempo di crescita, la neoplasia invade i vasi sanguigni e produce metastasi nel 20% dei casi. Ma ci sono anche casi rilevati in cui il carcinoma polmonare ha avuto un tempo di raddoppiamento variabile dai 6 ai 12 mesi per cui, la fase non riconoscibile della malattia può addirittura durare 30 anni. Questa varianza di evoluzione contribuisce a rendere difficoltosa la valutazione dei risultati terapeutici.

Dal punto di vista clinico si è soliti distinguere due tipologie principali di tumore del polmone che insieme rappresentano oltre il 95% di tutte le neoplasie che colpiscono questi organi:

- il **tumore polmonare a piccole cellule** (detto anche **microcitoma**, 10-15%)
 - il **tumore polmonare non a piccole cellule** (il restante 85% circa),
- entrambi originati dal tessuto epiteliale che riveste le strutture polmonari.

Il **tumore a piccole cellule** prende origine dai bronchi principali e si infiltra nella parete del bronco. Esso è costituito da cellule di piccole dimensioni, da due a quattro volte le dimensioni dei linfociti, metastatizza ai linfonodi ilari e mediastinici in una fase precoce del suo sviluppo cosicché, può essere diagnosticato nella fase in cui è ancora limitato nel polmone, solo in rari casi. Inoltre, questo tipo di carcinoma invade precocemente i vasi sanguigni generando metastasi a distanza. Si presenta in genere nei fumatori, mentre è molto raro in chi non ha mai fumato. La sua prognosi è peggiore, rispetto a quella del tumore non a piccole cellule, perché la malattia si diffonde molto rapidamente anche in altri organi.

Il **tumore non a piccole cellule** è costituito da grandi cellule maligne con abbondante citoplasma. Tende a svilupparsi nel parenchima polmonare periferico e, per la maggior parte, è costituito da adenocarcinomi indifferenziati e, in minor misura, da carcinomi indifferenziati a cellule squamose. Questi tumori crescono rapidamente e di solito invadono i vasi linfatici e i vasi sanguigni generando sia metastasi regionali linfonodali, sia metastasi a distanza [1].

Estensione anatomica del cancro

La stadiazione di un carcinoma broncogeno rappresenta la valutazione dell'estensione anatomica del cancro. Tra i sistemi che, nel corso degli anni, sono stati proposti per la misurazione della stadiazione del carcinoma broncogeno è prevalso il sistema americano TNM che permette di assegnare uno stadio alla malattia, mediante una scala di misura che va da uno a quattro.

Il parametro **T** descrive la dimensione del tumore primitivo (cioè quello che si è manifestato per primo, nel caso in cui questi siano più di uno sia all'interno del polmone sia nel resto dell'organismo), il parametro **N** prende in considerazione l'eventuale interessamento dei linfonodi e, infine, il parametro **M** fa riferimento alla presenza o meno di metastasi a distanza. Ovviamente, dato che il carcinoma broncogeno è un processo dinamico il risultato della stadiazione dipenderà dal momento in cui viene stadiato, durante la sua evoluzione clinica [1].

1.1.2 L'Angiogenesi

L'Angiogenesi è la proliferazione di nuovi vasi a partire da vasi pre-esistenti. Studi condotti sui vasi sanguigni e sulle cellule tumorali hanno dimostrato che l'Angiogenesi è un processo fondamentale per la crescita dei tumori. Infatti, attraverso la neovascolarizzazione, il tumore che prima si attestava su dimensioni ridotte (attorno ai 2-3 mm) a causa della difficoltà di accesso all'ossigeno, ai nutrienti e ai fattori di crescita presenti nel sangue, inizia a crescere e sviluppa la potenzialità di creare metastasi.

L'elevato livello di fattori di crescita angiogenetici e di cellule endoteliali in circolazione, l'aumento della densità dei microvasi e della loro permeabilità superficiale, sono tutti fattori che vengono utilizzati per la diagnosi di tumori e per il monitoraggio della loro crescita [1]. In figura 3 è rappresentato l'effetto provocato dal processo angiogenetico su un normale vaso sanguigno.

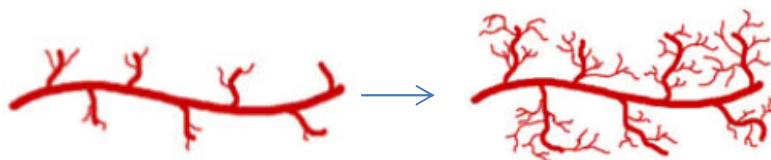


Figura 3: Vaso sanguigno sottoposto ad effetto angiogenetico

1.1.3 Sintomi, Diagnosi e Terapie

Sintomi

Il carcinoma broncogeno è asintomatico nelle fasi iniziali: succede a volte che la malattia venga diagnosticata nel corso di esami effettuati per altri motivi. Quando presenti, i sintomi più comuni del tumore del polmone sono: tosse persistente e ribelle alla terapia, raucedine, presenza di sangue nel catarro, respiro corto, dolore al petto che aumenta nel caso di un colpo di tosse o un respiro profondo, perdita di peso e di appetito, febbre, stanchezza, infezioni respiratorie (bronchiti o polmoniti frequenti o che ritornano dopo il trattamento).

Il tumore, inoltre, può diffondersi per contiguità alle strutture vicine (la pleura che riveste i polmoni, la parete toracica e il diaframma sono alcuni esempi) per via linfatica ai linfonodi o, attraverso il flusso sanguigno, dando origine a metastasi a distanza. Quasi tutti gli organi possono essere colpiti - fegato, cervello, surreni,

ossa, reni, pancreas, milza e cute - provocando sintomi specifici come: dolore alle ossa, ittero e cambiamenti neurologici quali: mal di testa e vertigini, o, ancora, noduli visibili a livello cutaneo [1].

Diagnosi

Lo sviluppo del carcinoma broncogeno può essere suddiviso in tre fasi:

1. fase non riconoscibile
2. fase preclinica o asintomatica ma riconoscibile
3. fase clinica o sintomatica, localizzata o diffusa.

La prima fase può durare mesi/anni, mentre la massa tumorale aumenta gradualmente, ma resta sotto la soglia del riconoscimento. Nel corso degli anni, sono stati proposti dei *markers* tumorali per la diagnosi ma nessuno di questi ha dimostrato una provata validità.

La seconda fase ha inizio quando il tumore raggiunge le dimensioni di 0,5 - 1 cm, tale da poter essere riconosciuto mediante esame radiografico del torace. Tuttavia, solo pochi casi di carcinoma vengono individuati in questa fase, poiché è ancora asintomatico e, quindi, rientra negli screening preventivi a cui si sottopongono poche persone.

E' solo nella terza fase clinica, con la presenza di sintomi sospetti, di solito avvertiti quando il tumore raggiunge la dimensione critica di circa 1cm^3 che si procede al primo step di esami di approfondimento: l'esame clinico radiologico del torace, che viene integrato dai dati di laboratorio e dalle tecniche di diagnostica per immagini (TC – Risonanza Magnetica e PET). Tuttavia, per arrivare a una diagnosi certa è necessario effettuare una biopsia - prelievo di un frammento di tessuto tumorale - e procedere al successivo esame istologico, cioè lo studio al microscopio del frammento prelevato. Spesso, viene anche effettuato l'esame citologico della saliva, nel quale si cercano eventuali cellule tumorali che provengono dai polmoni. Per avere un quadro più preciso della situazione, il medico può prescrivere anche altri esami un po' più invasivi come, per esempio, la broncoscopia che riesce a visualizzare l'interno dei bronchi, grazie a un sottile tubo inserito attraverso la bocca, utile anche per eseguire prelievi del tessuto senza ricorrere all'intervento chirurgico. Per valutare se la malattia è diffusa alle ossa, si utilizza in genere la scansione ossea (scintigrafia) mentre, la valutazione della funzionalità polmonare, ovvero di come lavorano i polmoni, è fondamentale

se si pensa di ricorrere all'intervento chirurgico per l'asportazione di parte del polmone. Nel corso delle analisi dei campioni di tessuto prelevati è, oggi, possibile accertare la presenza di peculiari recettori sulle cellule tumorali che rappresentano i bersagli, di farmaci specificamente mirati, con indubbi effetti sulla sopravvivenza del paziente [1].

Terapie

L'approccio terapeutico cambia notevolmente a seconda delle condizioni del paziente ma, soprattutto, del tipo di tumore polmonare che ci si trova di fronte: a piccole cellule, oppure, a grandi cellule [1].

Tumore a piccole cellule

Il trattamento più utilizzato per questo tipo di tumore del polmone è la **chemioterapia**, una scelta legata al fatto che la malattia, in genere, risponde bene ai farmaci oggi disponibili e che spesso, al momento della diagnosi, sono già presenti metastasi in organi diversi dal polmone e, di conseguenza, la chirurgia non può essere considerata un approccio efficace.

Per questo tipo di tumore si utilizza, in associazione alla chemioterapia, anche la **radioterapia** per eliminare eventuali cellule tumorali residue. Viene spesso utilizzata a livello del cervello, per ridurre il rischio di metastasi in questo organo, molto comuni e/o a scopo palliativo, cioè per ridurre i sintomi nei casi più avanzati.

La **chirurgia**, cioè l'eliminazione del tumore mediante l'asportazione dell'area del polmone coinvolta, del tutto o in parte (lobectomia), è indicata solamente in casi selezionati e si effettua molto raramente. Le **terapie biologiche**, basate su farmaci che hanno un preciso bersaglio molecolare, sono ancora in fase di studio per il trattamento di questo tipo di tumore del polmone, così come le terapie immunologiche, già in uso per altre neoplasie [1].

Tumore non a piccole cellule

Nel tumore non a piccole cellule l'**intervento chirurgico** rappresenta la terapia di scelta a meno che non siano già presenti metastasi a distanza. Dal momento che

con la chirurgia vengono asportate porzioni di polmone, è importante valutare prima dell'intervento le capacità respiratorie del paziente, per essere sicuri che non ci saranno in seguito problemi respiratori.

La **radioterapia** è utilizzata da sola o in combinazione con la chemioterapia, nei casi in cui non sia possibile procedere con la chirurgia, a causa delle marcate dimensioni del tumore o dello stato di salute del paziente. In alcuni casi, si utilizza la radioterapia interna o brachiterapia; l'impianto radioattivo rilascia la radiazione direttamente nel tumore dove viene posizionato.

Anche la **chemioterapia**, che si basa sull'uso combinato di diversi farmaci, ha un ruolo importante nel trattamento di questo tipo di tumore polmonare, soprattutto nei casi di malattia avanzata. Radioterapia e chemioterapia possono essere utilizzate prima dell'intervento chirurgico per ridurre le dimensioni del tumore o, dopo l'intervento, per eliminare le eventuali cellule tumorali rimaste.

Per quanto riguarda i **farmaci biologici**, sono stati ottenuti buoni risultati, in particolare, con farmaci che bloccano l'angiogenesi, cioè la formazione di nuovi vasi sanguigni.

Infine, in casi specifici, è possibile fare ricorso a trattamenti locali come: l'**ablazione con radiofrequenza** (per distruggere il tumore con il calore) la **terapia fotodinamica** (si inietta un farmaco che viene poi attivato grazie alla luce di un broncoscopio e distrugge le cellule tumorali) e la **terapia laser**.

Quando non è più possibile eliminare tutte le cellule tumorali dall'organismo, il ruolo delle cure mediche resta comunque fondamentale, è allora che entrano in gioco le terapie palliative il cui obiettivo è di alleviare i sintomi, in particolar modo il dolore, e di migliorare la qualità della vita del paziente [1].

1.2 La Tomografia computerizzata (TC)

In radiologia, la Tomografia Computerizzata (indicata, generalmente, con l'acronimo TC o dall'inglese *Computer Tomography* CT) è una metodica di diagnostica per immagini che sfrutta radiazioni ionizzanti, ovvero (raggi X indicati generalmente dall'acronimo RX) consente di ricostruire sezioni o strati corporei del paziente ed elaborazioni tridimensionali. In figura n.4 sono illustrate le modalità di acquisizione delle immagini: assiale e spirale.

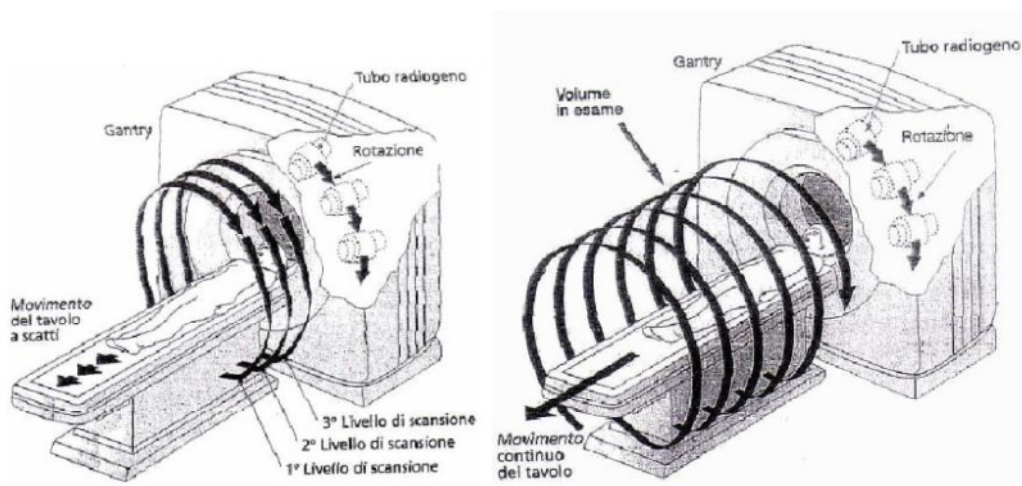


Figura 4: Tecniche di acquisizione assiale (a sinistra) e volumetrica (a destra)

Il principio di funzionamento della TC consiste nell'irradiare il corpo del paziente con un fascio di RX, dosato in base all'esigenze dell'indagine e alle caratteristiche del paziente. I RX vengono emessi dal "Tubo radiogeno" e, dopo aver attraversato il corpo del paziente, la rimanente parte, costituita da fasci di RX a energia minore (attenuata in seguito al passaggio nei tessuti) viene raccolta da un insieme di detettori in grado di acquisire le radiazioni impattate su di essi.

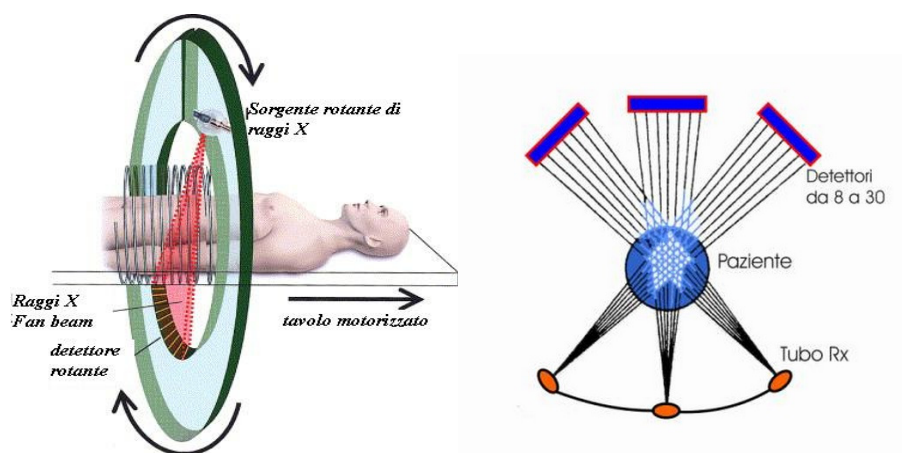


Figura 5: Emissione di RX dal tubo radiogeno e acquisizione delle radiazioni da parte dei detettori

La differenza tra le due modalità di scansione è lo spostamento verticale (ovvero in direzione dell'asse z) del lettino porta paziente. Nel caso della scansione di tipo **assiale**, il lettino si muove ad intervalli di tempo regolari: durante l'acquisizione (rotazione del *gantry*) rimane fermo, mentre una volta terminata la scansione di una fetta (*slice* o sezione di volume di interesse) il lettino si sposta sulla *slice* successiva. I dati ottenuti sono quindi relativi ad una serie di singole *slice* di tessuto confinanti o sovrapposte. Se si cambia il passo di avanzamento del lettino,

si ha una diversa distanza tra una *slice* e la successiva, rilevate in funzione degli intervalli di tempo impiegati dal lettino per spostarsi. Nel caso di scansione a **spirale**, il lettino si muove a velocità costante e l'acquisizione dei dati avviene in modo continuo. Il tubo radiogeno disegna una sorta di spirale attorno al paziente e acquisisce i dati, relativi a tutto l'insieme volumetrico, senza discontinuità spazio-temporale [2]. L'attenuazione subita dai RX varia proporzionalmente alla densità dei tessuti attraversati: quanto più è denso il tessuto attraversato dalla radiazione, tanto più si oppone al suo passaggio. Quindi, se i tessuti ossei, che hanno elevata densità, attenuano molto la radiazione; gli organi ricchi di aria, come ad es. i polmoni, la lasceranno passare in maniera inalterata.

L'intensità della radiazione (attenuazione causata dai tessuti) si misura in Unità Hounsfield (UH , o in *Hounsfield Unit* - HU) la cui scala comprende n. 2001 differenti tonalità di grigio che degradano dal nero (rappresentante tessuti a bassa densità come l'aria) al bianco (rappresentante tessuti ad altra densità come l'osso).

In figura n.6 l'immagine di TC polmonare.

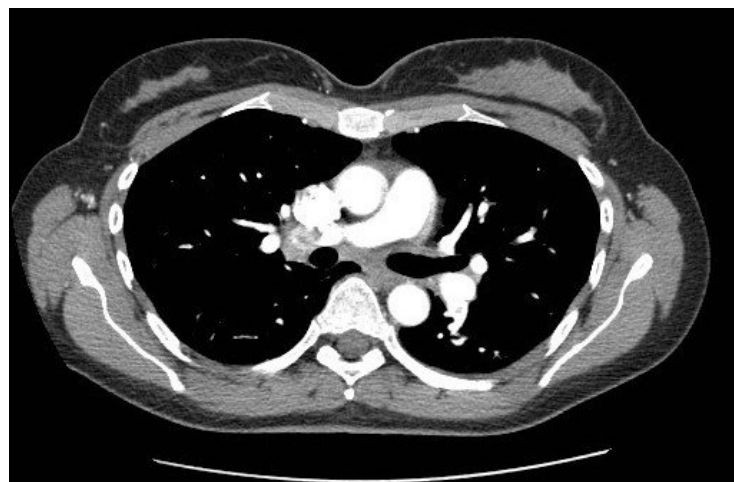


Figura 6: TC polmonare

Il valore in HU di un qualsiasi materiale è possibile calcolarlo, noto il corrispondente coefficiente di attenuazione (μ), ovvero il numero che indica la riduzione di intensità di un flusso che attraversa un mezzo, attraverso la relazione matematica:

$$HU = \frac{\mu_x - \mu_{water}}{\mu_{water} - \mu_{air}} \times 1000$$

Figura 7: formula del calcolo dell'HU

In figura n.8 è rappresentata la scala delle densità in HU, mentre nella figura n.9 la rappresentazione in scala di grigi.

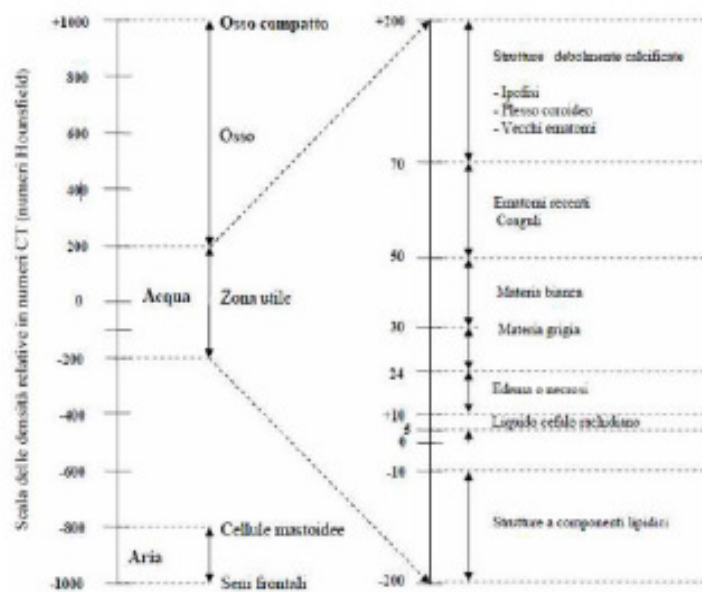


Figura 8: Scala delle densità in HU

La profondità cromatica è di solito di 8 bit (256 livelli di grigio) e la scala dei grigi è simile a quella radiografica.

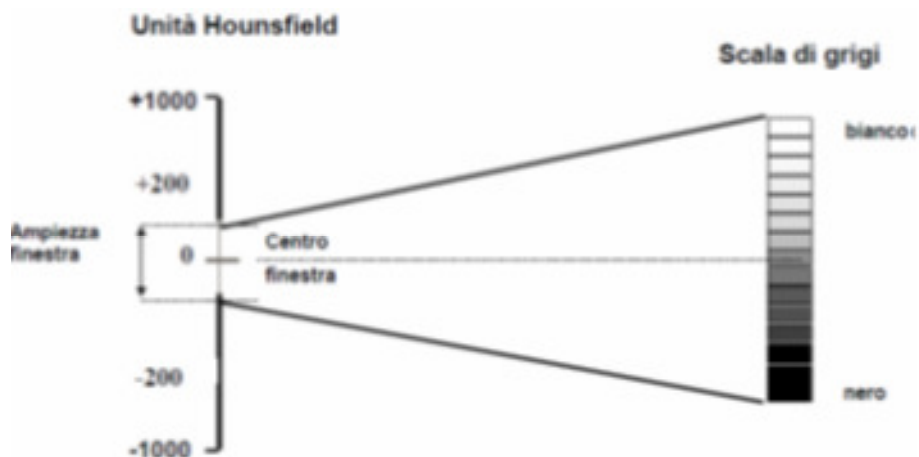


Figura 9: Rappresentazione in scala di grigi

Per effettuare la ricostruzione dell'immagine TC sono necessari tre passaggi, riportati nella figura n.10.

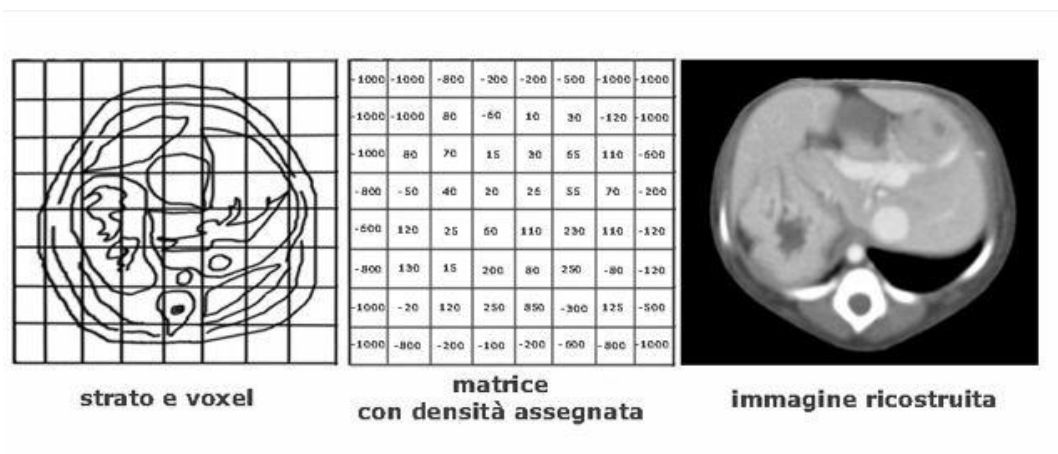


Figura 10: Ricostruzione dell'immagine TC

Attraverso l'applicazione di complessi algoritmi matematici e di tecniche di ricostruzione delle immagini, dai parametri di attenuazione rilevati è possibile generare immagini delle sezioni esaminate.

Poiché, le immagini sono prodotte in digitale, il tessuto esaminato viene suddiviso in una serie discreta di elementi di volume: *Voxel*, ai quali corrisponde un unico elemento d'immagine (*pixel*).

Le dimensioni di una singola immagine sono normalmente di 512x512 *pixel* per una profondità di 16 *bit/pixel*.

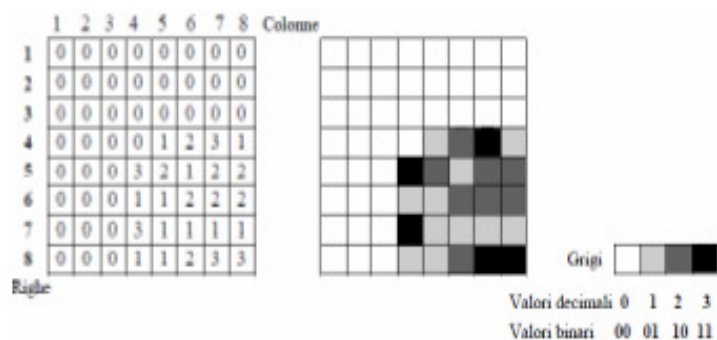


Figura 11: Esempio matrice 8x8

Successivamente, queste immagini vengono visualizzate al monitor e permettono al personale medico di analizzare i tessuti del paziente in modo non invasivo. Gli artefatti possono compromettere in modo serio la qualità delle immagini TC, spesso fino al punto di renderle diagnosticamente inutilizzabili. Per ottimizzare la

qualità dell'immagine, bisogna capire perché si verificano gli artefatti e come fare per poterli prevenire o eliminare.

Gli artefatti in TC sono causati da fonti diverse:

I *physics-based artifacts*, ad esempio, sono provocati dai processi fisici coinvolti nell'acquisizione dei dati TC; i *patient-based artifacts* sono causati da fattori quali: il movimento del paziente o la presenza di materiali metallici nel paziente; gli *scanner-based artifacts* derivano da problemi nel processo di ricostruzione dell'immagine [3].

Le caratteristiche di progettazione dei moderni scanner TC possono minimizzare alcuni tipi di artefatti ed alcuni possono essere parzialmente corretti dal software dello scanner. Tuttavia, in molti casi, un accurato posizionamento del paziente e una scelta ottimale dei parametri di scansione, sono i fattori vincenti per evitare artefatti TC.

1.3 La TC perfusionale (TCp)

La perfusione è definita come il trasporto di sangue all'unità di volume di tessuto nell'unità di tempo. Essa si riferisce al trasporto, attraverso il sangue, di ossigeno e nutrienti ai tessuti che avviene a livello dei microvasi capillari.

La perfusione può essere quantificata attraverso i seguenti parametri:

- Il flusso sanguigno (BF), espresso in ml/100 g di tessuto/minuto, rappresenta il flusso di sangue che attraversa i condotti vascolari del tumore. Un valore maggiore del flusso sanguigno, in una determinata zona di tessuto, può indicare la presenza di un numero elevato di *shunt* artero-venosi, ovvero, di deviazioni del flusso sanguigno, quindi, la presenza di una massa tumorale.
- Il volume sanguigno (BV), espresso in ml/100 g di tessuto, misura il volume di sangue che fluisce nel tessuto in esame. La crescita di questo valore può indicare l'aumento della micro vascolarizzazione in una determinata zona tissutale e, pertanto, in relazione al processo di angiogenesi, segnalare la presenza di una lesione (massa tumorale).

- Il tempo di transito medio (MTT) , misurato in secondi, rappresenta il tempo medio impiegato dal sangue per attraversare le strutture microvascolari dall'estremità arteriosa a quella venosa, l'aumento del BF provoca la diminuzione del MTT; di conseguenza, bassi valori di MTT denotano la possibilità di trovarsi in presenza di una lesione.
- La superficie di permeabilità (PS), espressa in ml/100 o/minuto, misura la frazione di contrasto che è trasferita dal sangue allo spazio interstiziale, ovvero, misura il prodotto tra la permeabilità e la superficie totale dell'endotelio capillare in un'unità di massa del tumore, generalmente 100 g. Un incremento di permeabilità dell'endotelio può riflettere la maggiore permeabilità dei vasi neoformati, rispetto ai microvasi normali.

Questi parametri sono messi in relazione tra loro, dal principio del volume centrale, secondo la seguente equazione:

$$BF = BV/MTT.$$

La TC perfusionale (TCp) è un valido strumento per l'*imaging* funzionale dei tumori. Permette di misurare, in modo oggettivo, la perfusione tissutale, attraverso l'analisi matematica dei dati ottenuti da scansioni TC ripetute nel tempo, dopo la somministrazione del mezzo di contrasto (MdC).

Il MdC è una sostanza che, una volta iniettata per via endovenosa, si diffonde negli spazi interstiziali e viene escreta dai reni. In base al tipo di MdC iniettato, il RX, emesso dalla TC, può subire una maggiore o una minore attenuazione. Al passaggio del MdC, sull'organo di interesse, si registra una variazione di densità del tessuto che consente di vedere, nel particolare, dove si ha circolazione sanguigna. Infatti, il tracciante entra in circolo nel corpo seguendo il flusso sanguigno dei vari tessuti.

Il periodo di tempo compreso tra l'iniezione del mezzo di contrasto e l'istante che precede il secondo passaggio del tracciante, all'interno di un determinato tessuto, è denominato "fase di *first pass*". Il periodo di tempo successivo alla fase di *first pass* è invece denominato "fase interstiziale".

Con l'osservazione, nel tempo, della diffusione del MdC nei tessuti, la TCp rende possibile lo studio della vascolarizzazione della zona di interesse e l'esame del volume corporeo in cui è presente la lesione. L'esame si concretizza

nell'esecuzione di scansioni TC, ripetute nel tempo, del volume in analisi: queste devono essere acquisite prima, durante e dopo la somministrazione endovenosa di MdC, in modo da poterne studiare le variazioni di densità nel tempo.

La densità è misurata dalla TC nel *voxel*, cioè l'attenuazione dei RX, espressa in HU, è direttamente proporzionale alla quantità di MdC che si diffonde nei vasi e negli spazi extra-vascolari/cellulari o, più semplicemente, interstiziali per diffusione passiva.

In sintesi, con l'iniezione di un MdC, è possibile ottenere informazioni di tipo funzionale di una determinata area di tessuto esaminato. Tali informazioni, elaborate mediante l'utilizzo di uno dei tanti modelli cinetici diffusi in letteratura, permettono il calcolo degli indici perfusionali analizzati in precedenza.

Lo studio perfusionale è, quindi, funzionale alla valutazione precoce dell'efficacia delle terapie utilizzate per bloccare la vascolarizzazione, tipica delle lesioni tumorali. Infatti, sin dal primo ciclo di terapie, è possibile rilevare se la neoangiogenesi tumorale si riduce, senza dover attendere i cambiamenti dimensionali, che, in genere, avvengono tardivamente [4,5,7].

1.4 Il mezzo di contrasto (MdC)

Il mezzo di contrasto è una soluzione iodata in grado di aumentare o diminuire l'attenuazione dei raggi X. Ha assunto un ruolo importante nel campo della Diagnostica Radiologica, nella Risonanza Magnetica dinamica (DCE-MR) e nell'Ecografia (DCE-US) perché, alterando il contrasto dell'organo-lesione in esame, consente di evidenziare dettagli e particolari che, altrimenti, rimarrebbero insignificanti [4,7].

Nella prassi, in base alla/al:

- concentrazione di iodio,
- volume iniettato nel condotto venoso,
- portata con cui si inietta (prestando attenzione alla pressione, misurata in psi, che si va ad esercitare nel condotto),

si cerca di ottenere la massimizzazione di *enhancement* (presa di contrasto da parte dei tessuti) in modo da amplificare i risultati positivi, in termini di quantificazione della qualità dell'immagine.

Negli studi TCp, di solito, è preferibile utilizzare concentrazioni elevate del MdC in maniera da ottenere un'attenuazione della portata, particolare molto importante, nel caso di pazienti con condotti venosi di bassa qualità (che non supportano elevate portate, con massimi di 2.5-2.7 ml/sec) [2,4,8].

In fisica **psi** è l'acronimo di *pound per square inch*, locuzione inglese che significa: *libbre per pollice quadrato* - 1 psi = 1 lb/in² = 6 894 N/m² = 6 894 Pa = 0,06894 bar = 1.7149 mmHg.

Per la somministrazione del MdC si deve, sempre, scegliere un accesso venoso adeguato che garantisca la portata dell'iniezione.

È possibile regolare l'alto quantitativo di grammatura di iodio in 2 modi:

- diminuendo la concentrazione e aumentando la portata;
- aumentando la concentrazione e mantenendo costante la portata.

Più è alta la concentrazione minore sarà la portata con cui viene iniettato (Es: 1.2 grammi iodio/sec, possono usare [300] a 4 ml/sec oppure [600] a 3ml/sec).

Al variare della tipologia di esame da effettuare, si ha un diverso utilizzo del MdC per quanto riguarda:

- concentrazione, che provoca una variazione dell'*enhancement* del tessuto e del carico di dose assorbita.
- volume/portata, che dipendono anche dalla massa corporea del paziente e dalla tipologia di esame che si deve eseguire (per TCp: MdC a [400], volume 50 ml/sec, con portata di 5-7 ml/sec; per TC addominali/toraciche/encefalica: MdC a [350], volume 80-140 ml/sec, con portate di 2-3 ml/sec).

1.5 I parametri di acquisizione della TCp

Con la TCp si va ad esaminare solo il volume corporeo in cui è presente la lesione di interesse (invece, ad esempio, dell'intera sezione addome o torace ottenuta dagli esami standard TC). In tal modo, si ottiene una significativa riduzione delle quantità di radiazioni somministrate al paziente. Per giungere a questo risultato è necessario acquisire uno scanogramma iniziale, a basso voltaggio-amperaggio e senza uso del MdC, allo scopo di circoscrivere , con precisione, l'area interessata.

L'area massima esaminabile per lo studio TCp è limitata, lungo l'asse Z, dal numero di detettori presenti sulla TC utilizzata (volume massimo di 80 mm con 128 detettori, 4mm con 64 detettori, 2mm con 16 detettori). Con la macchina TC della Philips (*jCT Brilliance*), presente in IRCCS-IRST, è possibile eseguire scansioni di 50 mm per le lesioni epatiche e di 55 mm per lesioni polmonari. Nel caso in cui il tumore abbia un volume maggiore, rispetto a quello che la scansione perfusionale, è in grado di analizzare, il medico radiologo dovrà identificare la sezione, nella quale l'area visualizzata del tumore è maggiore, e utilizzare quella *slice* come centro volumetrico dello studio di perfusione [4,9].

L'acquisizione dell'esame consiste nello scansionare, ripetutamente nel tempo, il volume corporeo precedentemente selezionato. Il protocollo, utilizzato in IRCCS-IRST per l'esame TCp, prevede l'utilizzo di scansioni assiali con lettino porta paziente in posizione stazionaria.

Il MdC viene somministrato al paziente tramite la tecnica dello *short sharp bolus* (bolo breve e concentrato) iniettando una quantità ridotta (40-50 ml) ad alta velocità (4-6 ml/s), seguita da 20-40 ml di soluzione fisiologica iniettata con la medesima velocità di flusso. In tal modo, si mantiene costante la concentrazione intravascolare del MdC. Il tracciante, trasportato dal flusso sanguigno, comincia ad entrare e uscire dai tessuti in cui circola. Il periodo di tempo che va dall'iniezione del MdC all'istante in cui si verifica il ricircolo nel tessuto è denominato "fase di first pass"; mentre, nel periodo successivo, denominato "fase interstiziale", il sangue comincia a passare nuovamente nei tessuti esaminati.

In Figura n.12 è visibile un esempio di: curva tempo concentrazione che evidenzia gli andamenti distinti delle due fasi [9].

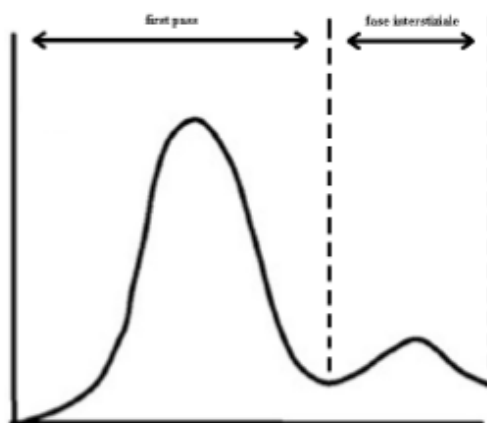


Figura 12: Grafico di una curva tempo concentrazione con indicate dalla fase di first pass a quella intestiziale

Le scansioni effettuate durante il *first pass* richiedono un'elevata risoluzione temporale, variabile in base al modello cinetico scelto per l'analisi perfusionale; ad esempio, vanno da 1 s (per il metodo di deconvoluzione) a 3-5 s (per il modello cinetico bicompartimentale). In questa fase dell'esame TCp, vengono estratti i dati che serviranno per calcolare la maggior parte degli indici perfusionali come: il BF, il BV e il MTT. Nella fase interstiziale dell'esame TCp vengono, invece, calcolati altri parametri perfusionali, come la PS. La durata della scansione, in questa fase di analisi (che può variare dal primo al decimo minuto, dopo l'iniezione del mezzo di contrasto, a seconda della tipologia di TCp eseguita) rende elevata la quantità di radiazioni somministrata al paziente. Tale dose tuttavia, rimane oggettivamente contenuta grazie alla risoluzione temporale delle scansioni che è decisamente inferiore, rispetto a quella necessaria durante il *first pass*.

Data l'elevata quantità di radiazioni somministrate al paziente durante l'esame, vari studi hanno dimostrato che, per ridurre le dosi di radiazione e incrementare l'attenuazione di iodio, è consigliabile mantenere i livelli di voltaggio e di amperaggio piuttosto bassi (con valori di tensione di 80-100 kV-p e di corrente di 120-200 mA).

Tuttavia, in presenza di regioni del corpo molto ampie, o pazienti con grande quantità di massa grassa, l'uso di bassa tensione (al fine di analizzare superfici più ampie senza eccedere la dose di radiazioni) comporta un incremento del rumore dell'immagine, con il rischio di renderla inutilizzabile. Pertanto, la tensione del tubo radiogeno deve essere aggiustata, di volta in volta, in ragione delle differenti regioni e dimensioni corporee, per garantire un'elevata qualità dell'immagine.

Al fine di mantenere bassa la dose di radiazioni somministrate, altri studi hanno dimostrato che, mantenendo lo spessore dell'immagine acquisita uguale o maggiore a 5 mm, è possibile ottenere un buon equilibrio tra la risoluzione spaziale e il rapporto segnale-rumore delle scansioni perfusionali [9].

Infine, per migliorare la qualità dell'esame, è necessario limitare il più possibile il movimento dei tessuti in analisi durante le scansioni. Per fare ciò è necessario effettuare le acquisizioni a respiro sospeso e informare il paziente, circa la sensazione di caldo causata dall'iniezione del MdC, per evitare la deglutizione ed eventuali spasmi improvvisi [4].

1.6 Le ROI

La *Region of Interest* (ROI), è quell'area d'interesse dell'immagine sulla quale si vogliono svolgere i rilevamenti, le misure e le elaborazioni dati. Si tratta di una superficie delimitata da un indicatore visivo che può essere di vario tipo (es. poligonale, circolare, ellittico). Il “tracciamento” della ROI in può avvenire tramite l'interazione con il mouse o, automaticamente, fornendo al software le coordinate dell'area a cui si è interessati. In IRCCS-IRST avviene manualmente. Il tracciamento semiautomatico/ automatico delle ROI è una delle problematiche su cui si sta lavorando, nell'ambito del progetto PERFECT.

Demarcare la ROI è di grande utilità, in quanto si focalizzano gli sforzi di tipo “osservativo” e “computazionali” solo su quell'area, tralasciando la restante parte dell'immagine. Si ottiene così una ricaduta positiva sul carico computazionale a cui sottoporre il calcolatore, rendendo più “veloce” l'attività da svolgere.

In figura n.13, un esempio di tracciamento della ROI effettuata dal medico radiologo tramite il software ImageJ.

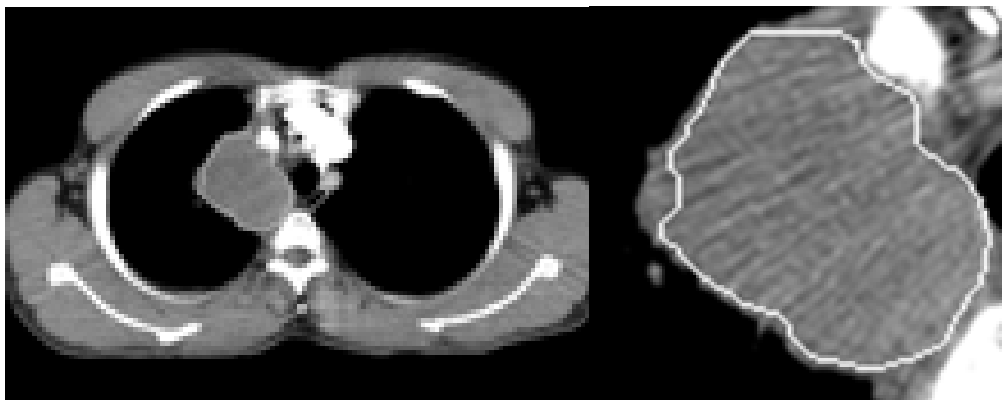


Figura 13: CT polmonare con tracciamento ROI su lesione

1.7 Le Mappe colorimetriche

Le mappe colorimetriche (in inglese *ColorMap*) stanno acquisendo sempre maggiore importanza per il personale medico, in quanto consentono di eseguire prognosi e diagnosi sulla lesione esaminata e supportano, efficacemente, nella disposizione delle terapie da sottoporre ai pazienti.

Le *ColorMap* sono create da software specifici, a seconda dell'analisi che si desidera eseguire. Per gli esami perfusionali, attribuiscono ad ogni pixel dell'immagine TCp un colore che rappresenta il valore numerico del parametro perfunzionale, calcolato per tale pixel (BF, BV, PS, MTT); la scala dei colori può essere modificata dall'operatore, con lo scopo di massimizzare le differenze tra le aree a diversa perfusione. In Figura n. 14, un esempio di *ColorMap* di una lesione con scala dei colori modificata, a sinistra e, non modificata, a destra.

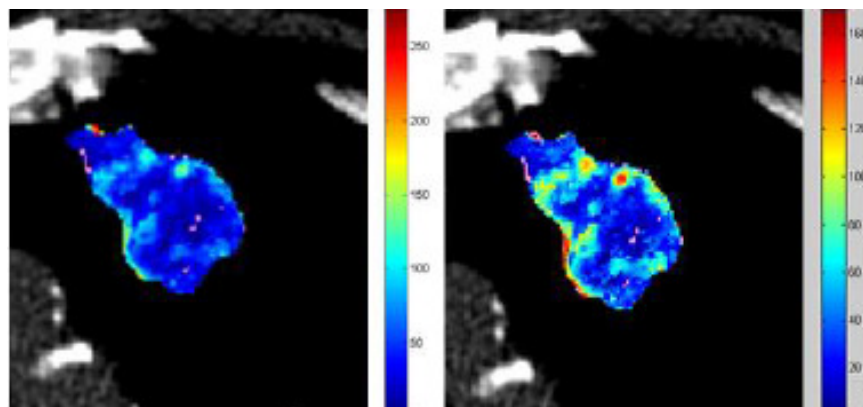


Figura 14: a sinistra ,ColorMap con scala dei colori non modificata; a destra,ColorMap con scala dei colori modificata.

Lo studio della *ColorMap* consente di eseguire un' analisi qualitativa dei parametri di perfusione. Infatti, è possibile visualizzare la distribuzione della perfusione all'interno di tutto il volume, oggetto dell'analisi (se necessario, delimitato da ROI) evidenziare la presenza di possibili *spots angiogenetici* (le aree più perfuse del tumore) e di aree di possibile necrosi o ipossia (le aree meno perfuse del tumore). Inoltre, la maggior parte dei software commercializzati permette di sovrapporre la *ColorMap* con l'immagine TCp nativa, così da essere d'aiuto all'identificazione dei margini del tumore, in presenza di un'anatomia complessa della lesione o dopo l'esecuzione della terapia (chemio- o radio) [4,5].

2. Progettazione dello studio e del catalogo

2.1 Scopo del progetto

La finalità dello studio in esame concordata, attraverso incontri di *startup* con i medici dell'Unità Operativa di Radiologia dell' IRCCS-IRST e gli ingegneri operanti nel progetto, è stata quella di fornire ai primi un protocollo perfusionale, capace di tenere sotto controllo tutti i parametri perfusionali (dalla fase di somministrazione del mezzo di contrasto alla fase di acquisizione delle immagini e dei dati dei pazienti) corredato da un catalogo, completo di mappe colorimetriche, che sintetizzi i casi analizzati, sia facilmente consultabile e consenta di fornire una validazione visiva dei risultati.

Concretamente, per standardizzare le procedure di esecuzione degli esami perfusionali e ottenere il controllo del processo di gestione e archiviazione dei dati acquisiti, ho partecipato all'implementazione di:

- un protocollo di acquisizione delle immagini e dei dati dei pazienti, oggetto del campione,
- una procedura per l'organizzazione e l'archiviazione del materiale, oggetto di elaborazione,
- un protocollo di interfacciamento verso il medico radiologo, per lo scambio di informazioni sulle lesioni evidenziate dallo studio perfusionale.

Infine, ho realizzato il catalogo, la sintesi necessaria per il controllo degli indici perfusionali e la validazione visiva dei risultati.

2.2 Il campione esaminato e il protocollo di ricerca implementato

Il campione statistico, oggetto di studio nel catalogo, è stato composto attraverso l'applicazione del protocollo: 162.04, istituito da IRCCS-IRST [10]. I pazienti sono stati selezionati da una commissione di medici oncologi, attraverso la definizione di specifici requisiti a cui hanno dovuto corrispondere per essere ritenuti idonei ed entrare a far parte dei casi studio.

Il paziente, inserito nel protocollo, è stato sottoposto ad una prima seduta perfusionale (detta *baseline*) in cui è stato verificato lo stato della lesione, prima dell'inizio dei cicli terapeutici. Successivamente, in base al tipo di terapia

utilizzata, il paziente ha sostenuto sedute di controllo (dette *follow-up*) realizzate ad intervalli di due e/o sei mesi. Durante questi *step* di controllo, si è proceduto alla verifica di eventuali variazioni morfologiche ed emodinamiche subite dalla lesione e, in ragione delle informazioni emerse, il medico oncologo ha deciso se continuare con la stessa terapia o modificarla per massimizzarne l'efficacia.

In IRCCS-IRST, in accordo con il personale tecnico dell'U.O. di Radiologia, è stato definito un protocollo per standardizzare la fase d'esecuzione e d'acquisizione degli esami TCp, in modo da uniformare la procedura per tutti i pazienti campionati, rispettando, nel contempo, le tempistiche esecutive e i parametri tecnici della macchina stabiliti dal costruttore.

L'esame TCp si concretizza nell'indagare il medesimo volume corporeo più volte nel tempo. E' realizzato in due fasi, della durata ognuna di 25s. Durante l'esame, il paziente viene invitato a trattenere il respiro. Nella prima fase che inizia dopo aver atteso 5s, dall'inizio dell'iniezione del MdC, vengono eseguite 20 scansioni della durata di 10.25 s. In ogni scansione vengono acquisite 11 *slice*, dello spessore di 5mm, per un totale di 220 immagini ed un volume esaminato di circa 55 mm. Durante la seconda fase, vengono eseguite 2 scansioni, a 25s di distanza l'una dall'altra, costituite sempre da 11 *slice* per scansione, per un totale di 22 immagini. Procedendo così si realizzano 22 scansioni e si ottenengono complessivamente 242 immagini, del medesimo volume, in un tempo medio di 60s [11].

2.3 Lo Studio delle lesioni e segmentazione delle ROI

Per permettere al personale tecnico e medico di gestire agevolmente l'inserimento e l'aggiornamento dei dati, dei pazienti sottoposti ad esame TCp, è stato necessario introdurre una modalità di archiviazione, ovvero, è stato creato un *database* in grado di raccogliere tutti i dati relativi agli esami TCp svolti, nonché le informazioni, inerenti le fasi di preparazione del paziente e di acquisizione delle immagini TCp (es: MdC, posizione dell'accesso venoso, tempistiche di esecuzione ecc). Tutte queste informazioni sono di rilevante importanza per la riproducibilità dell'esameTCp, in quanto riutilizzate ogni qualvolta il paziente è stato sottoposto a controllo. Tutte le informazioni archiviate nel database sono state oggetto di trattazione nel catalogo.

(Per maggiori specifiche e dettagli, è possibile fare riferimento all'elaborato di tirocinio di Mattia Gardini) [13].

Una volta archiviati, i dati degli esami dei pazienti campionati sono stati visionati e studiati dal medico radiologo che, in tal modo, ha potuto fornire dettagliate informazioni, in merito al comportamento vascolare del tessuto nel tempo, e procedere alla segmentazione della ROI sulla lesione.

In base alle difficoltà incontrate per l'identificazione e la segmentazione di alcune lesioni, è stato definito un criterio di classificazione (facile, media e difficile) che ha permesso al team di identificare velocemente la complessità dell'esame e applicare la procedura più idonea alla preparazione dei dati.

Successivamente, utilizzando la ROI tracciata dal medico, sono stati elaborati i dati restanti quali: le sequenze di ROI e i *file di batch* (che sono dei *file* di testo, contenenti l'*array* che associa ogni ROI ad una specifica immagine DICOM dell'esame TCp).

Durante la creazione delle ROI è stato necessario affrontare un problema importante legato al bisogno di dover modificare la posizione della ROI nel tempo, al fine di poter seguire gli spostamenti della lesione provocati principalmente dagli atti respiratori del paziente, durante l'acquisizione delle immagini TCp. L'esame dovrebbe essere eseguito in apnea ma, a causa delle condizioni di salute e/o dallo stato di tensione a cui è sottoposto il paziente, accade spesso che tale condizione non venga rispettata. La respirazione è un processo che provoca la ciclica contrazione e il rilassamento dei muscoli del torace e dell'addome; questo movimento degli organi interni determina il conseguente spostamento della lesione lungo le assi X, Y e Z, modificando la posizione originaria della SdR.

In genere, se la lesione si sposta lungo le assi X e Y, la ROI si sovrappone solo parzialmente alla lesione, andando a coprire zone di tessuto sano. Se la lesione si sposta lungo l'asse Z, cambia anche la SdR della ROI che andrà a campionare una sezione diversa della lesione, oppure del tessuto sano.

Per risolvere questo problema ed evitare di ottenere risultati fuorvianti, è stato deciso di seguire lo spostamento della lesione lungo tutti e tre gli assi, spostandosi, quando necessario, nelle *slice* adiacenti alla posizione della SdR (spostamento sull'asse Z) e traslando manualmente la ROI sul piano XY.

Operando in tal modo, è stato possibile campionare la stessa sezione della lesione per ciascun istante di tempo migliorando l'affidabilità, la qualità dei dati e, quindi, dei risultati ottenuti.

Nel catalogo è evidenziata l'analisi dei dati eseguita attraverso l'applicazione di quattro metodiche differenti:

- *Fixed* (F): mantenendo la ROI fissa sullo *stack*;
- *Manual* (M): traslando la ROI sul piano XY di ogni immagine dello *stack*;
- *Best* (B): traslando la ROI sia sul piano XY che sull'asse Z e , quindi, anche su *slice* adiacenti alla posizione della SdR;
- *1D* (1D): traslando la ROI lungo l'asse Z ma mantenendola fissa sul piano XY;

Come si vedrà, a conclusione dello studio illustrato nel catalogo e, in particolare, dall'analisi delle mappe colorimetriche, il metodo *best* è considerato il migliore in quanto, seguendo la lesione passo passo lungo i tre assi, consente di ridurre sensibilmente gli errori e, pertanto, incide favorevolmente sulla veridicità e l'affidabilità della mappa colorimetrica.

Di contro, il metodo *Fixed* è il peggiore dei quattro individuati. Questo perché, la staticità della posizione della ROI e la mancanza delle traslazioni nelle *slice* adiacenti (se necessario), fa sì che vengano considerate aree di tessuto sano e/o aria, fattori che condizionano pesantemente i risultati; talvolta stravolgendoli completamente o aumentando notevolmente l'inaffidabilità dell'analisi.

La *Manual* e la *1D* rappresentano una via di mezzo, rispetto alla *Fixed* e alla *Best* e trovano applicazione solo in casi specifici. Infatti, quando la lesione si sposta solo lungo l'asse Z, nel catalogo sono state applicate tutte e quattro le metodologie sopraelencate mentre, quando la lesione ha subito spostamenti solo sul piano XY, non c'è stata la necessità di ricorrere alla *Best* e la scelta applicativa si è rivolta ai metodi *Fixed* e *Manual*.

Attraverso il *software* realizzato dai ricercatori della CVG, è stato possibile generare le mappe colorimetriche che consentono di visualizzare la distribuzione dei valori di perfusione all'interno di tutto il volume studiato.

La validazione dei metodi applicati è avvenuta attraverso l'analisi qualitativa e quantitativa delle mappe colorimetriche, generate mediante l'applicazione dei quattro metodi di allineamento (*Fixed*, *Manual*, *Best* e *1D*).

L'analisi quantitativa si è svolta considerando due indici: la " μ_ε " (che rappresenta la media dei residui) e la " σ_ε " (che rappresenta la deviazione standard - vale a dire, quanto variano i residui nel tempo). Nel catalogo vengono applicati entrambi gli indici per ogni caso analizzato. Questi indici di errore consentono di verificare l'affidabilità del campionamento del segnale "tempo-concentrazione" e, quindi, della perfusione nel tempo, valutandola *pixel per pixel*, in presenza di artefatti da movimento [6].

L'analisi qualitativa è stata effettuata attraverso un secondo interfacciamento con i medici. Ovvero, dopo aver creato le mappe colorimetriche, attraverso i quattro metodi di allineamento, le mappe sono state analizzate dai medici radiologi, senza specificare loro quale metodo fosse stato applicato per crearle. Dopo attenta valutazione, i medici hanno deciso quali mappe colorimetriche fossero maggiormente funzionali all'analisi della perfusione, nel tempo della lesione [6].

Si è verificato che l'indice qualitativo e l'indice quantitativo, quando applicati entrambi sullo stesso caso, hanno prodotto risultati coincidenti. E' stata osservata una sola eccezione, inerente un caso particolare, che verrà esposto nel quarto capitolo della tesi, nel paragrafo "statistiche dei casi catalogati"[6].

2.4 Programmi e strumenti utilizzati

Per la definizione di tutti i dati da inserire nel catalogo, è stato necessario acquisire dimestichezza con alcuni programmi informatici: *PmsDView*, *ImageJ* e il *Software GUI*. Questi tre software hanno consentito di gestire le immagini DICOM (*PmsDView*), di tracciare le ROI al medico radiologo e archivarle (*ImageJ*) ed, infine, di creare le mappe colorimetriche dei parametri perfusionali (*Software GUI*).

L'acronimo DICOM (dall'inglese *Digital Imaging and Communications in Medicine*) è uno standard internazionale (ISO 12052). La specificità del mondo biomedicale ha richiesto una nuova definizione per il formato dei dati grafici, le immagini devono poter includere al loro interno anche informazioni legate al paziente. DICOM è un protocollo di comunicazione versatile, viene utilizzato per: la manipolazione, l'archiviazione, la stampa e la trasmissione di immagini mediche, quali ad esempio le immagini radiologiche. Si basa su un modello concettuale ispirato al paradigma *Object Oriented* dell'analisi e della

PmsDView è un programma esecutivo prodotto dalla Philips che consente di lavorare con le immagini DICOM; è stato scelto, come supporto visivo, dai medici radiologi in quanto la maggior parte dei comandi, come ad esempio: lo scorrimento delle immagini o le modifiche dei valori di *window* e *level*, sono gli stessi o comunque molto simili ai programmi normalmente utilizzati nella prassi quotidiana. In tal modo, è stato possibile ottimizzare il loro contributo e rendere più agevole l'interfacciamento per lo studio degli esami TC.

Figura 15: Interfaccia del software PmsDView della Philips

ImageJ, è un *software open source* programmato in *JAVA*. Si è rivelato molto duttile in quanto permette di visualizzare, modificare, analizzare e salvare le immagini. Offre, inoltre, un semplice ma valido supporto per il tracciamento, il salvataggio e la modifica delle ROI che possono essere segmentate su una lesione, un tessuto sano, oppure un *input* arterioso. Per gestire il segmento tracciato viene utilizzata la finestra di lavoro: "*ROI Manager*".

Dopo aver effettuato il salvataggio delle ROI, il programma memorizza le coordinate XY di ogni punto del contorno della ROI tracciata. L'uso di *ImageJ* consente inoltre di visualizzare e modificare i valori di *window* e *level* delle immagini TCp, in maniera da consentire l'ottimizzazione e la messa in evidenza di tutti i particolari del tessuto in analisi. In figura n.16 è riportato il piano di lavoro del *software ImageJ*. In alto è presente la barra dei comandi mentre al centro vi è lo *stack* delle immagini TCp, inerenti alla SdR scelta dal medico. A destra sono

presenti due finestre di lavoro: la W&L (per variazioni di contrasto dell'immagine) e la ROI Manager (per la gestione delle ROI segmentate).

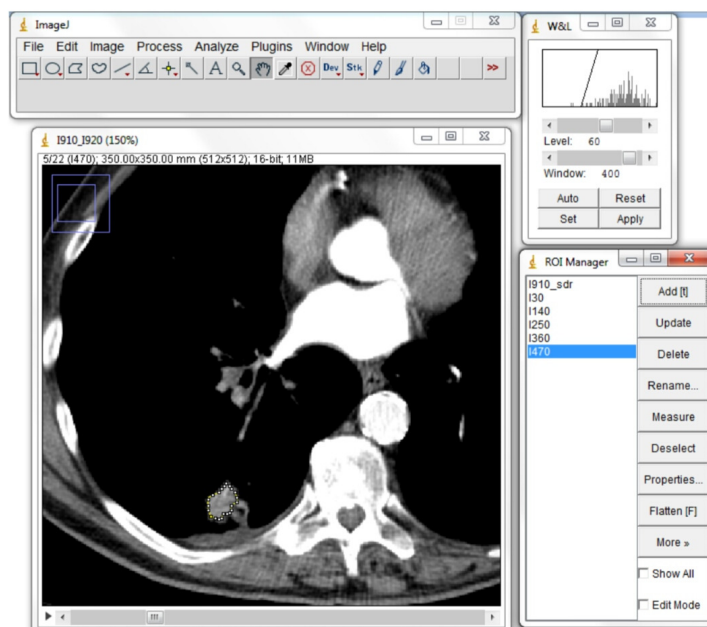
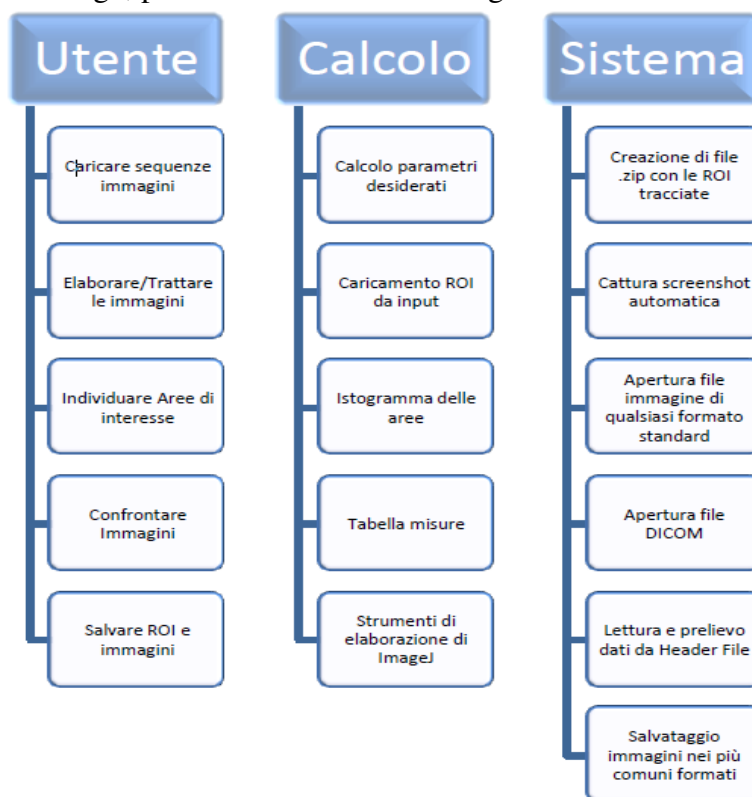


Figura 16: Piano di lavoro del software *ImageJ*.

Il *software GUI* è stato utilizzato per la definizione delle mappe colorimetriche inserite nel catalogo, può essere suddiviso nei seguenti macroblocchi funzionali:



Per approfondimenti sui macroblocchi rappresentati si rimanda al lavoro di Tesi di Josè Silvio Falla. Anno accademico 2011-2012 [12].

3. Realizzazione dello studio e del catalogo

Grazie al lavoro di *team* dello staff ingegneristico dell'Università di Bologna e medico dell' IRCCS-IRST, è stato possibile raccogliere tutte le informazioni e il materiale necessario per la definizione dei risultati perfusionali inseriti nel catalogo. In questo capitolo vengono spiegate: la struttura del catalogo e descritte le procedure implementate per la preparazione del materiale e la successiva definizione dei risultati attraverso la *GUI* (*Graphical User Interface*).

3.1 Impostazione del catalogo

L'esame perfusionale si svolge attraverso una seduta di TCp, preceduta da richiesta inserita nel "foglio delle richieste" del paziente. Concretamente, mentre il paziente viene preparato e istruito sul comportamento da tenere durante l'esecuzione dell'esame, gli operatori tecnici radiologi aggiornano il database degli esami TCp, inserendo tutti i dati e i parametri necessari. Il *database* si è dimostrato uno strumento fondamentale per la costruzione del catalogo. L'archiviazione sistematica degli esami TCp svolti ha permesso di reperire tutte le informazioni utili sulle lesioni e anche di realizzare approfondimenti di analisi, attraverso veloci e selettive ricerche realizzate indicando alcune specifiche dei pazienti campionati.

Nel dettaglio, il *database* contiene:

- Nella prima colonna, il numero totale dei pazienti ammessi al protocollo di ricerca perfusionale;
- Nella seconda colonna, l'ID dei pazienti, ordinato in modo crescente;
- Nella terza colonna, la codifica della difficoltà dell'esame (concetto che verrà approfondito nel paragrafo successivo);

Dalla quarta colonna in poi, vengono riportate le date di acquisizione delle sequenze temporali degli esami perfusionali svolti, partendo dalla *baseline* (TC0) e proseguendo coi successivi *follow up* (TC1 indicato come 1° *follow up*, TC2 indicato come 2° *follow up* etc...).

Dopo gli N-*follow up* descritti, il cui numero varia da caso a caso, vi sono altre due colonne che contengono informazioni sul tipo della lesione esaminata e sullo

stadio della neoplasia se presente, altrimenti, se ne dichiara l'assenza con l'acronimo "NP" = non presente.

Tutte queste informazioni archiviate nel *database* sono materia del catalogo.

	ID	Difficoltà	Baseline	1° FollowUp	2° FollowUp	3° FollowUp	4° FollowUp	5° FollowUp	tipo lesione	Stadio neoplasia
1	XXXXX	F	23/02/2012						adk	NP
2	XXXXXX	F	24/05/2011	08/06/2011	01/09/2011	13/10/2011	01/02/2012	24/05/2012	ca. squamo cellulare G3	NP
3	XXXXX	D	30/11/2010	25/01/2011	18/03/2011	29/04/2011	13/06/2011			
4	XXXXXX	F	09/05/2013						adk G1 polmonare	NP
5	XXXXXX	F	11/11/2011						adk	IIIB

Figura 17 : Esempio del database perfusionale polmonare.

3.1.1 Classificazione della difficoltà dell'esame: Facile, Media, Difficile.

Si è detto che nel *team* di progetto, la cooperazione importante tra lo *staff* ingegneristico (che si è occupato della gestione del materiale di Imaging e dell'implementazione di *software*) e lo staff dei medici radiologi (che hanno esaminato gli studi perfusionali e supportato nella creazione delle mappe colorimetriche) ha permesso di riportare nel catalogo, alle sezioni: "Considerazioni cliniche" e "Considerazioni sulla ROI" tutte le informazioni inerenti le neoplasie dei pazienti esaminati. In particolare, il materiale fornito sulle lesioni ha consentito ai medici di prognosticare il comportamento perfusionale di queste ultime e valutare la risposta dei tessuti ai trattamenti terapeutici applicati.

In dettaglio, nel catalogo, i dati individuati dal medico radiologo sono stati:

- una descrizione dettagliata della lesione;
- una classificazione della neoplasia, in base alla codifica stabilita per l'identificazione e la successiva segmentazione della ROI;
- l'identificazione del comportamento emodinamico nel tempo della lesione;
- l'identificazione della SdR, ovvero l'immagine sulla quale eseguire lo studio perfusionale e segmentare la ROI.

Inoltre, per facilitare la lettura delle mappe colorimetriche, è stato funzionale all'analisi identificare un metodo che consentisse di classificare i differenti gradi di difficoltà della segmentazione della ROI.

Sono stati individuati tre livelli:

Facile

Come è ben visibile nella figura n. 18, la massa patologica è situata nel mezzo del parenchima o vicino alla pleura della regione costale. Con lesioni di questo tipo, data la netta differenza fra il tessuto della lesione (in grigio) e la massa di aria contenuta nel polmone (in nero), risulta piuttosto semplice tracciare la segmentazione della ROI.

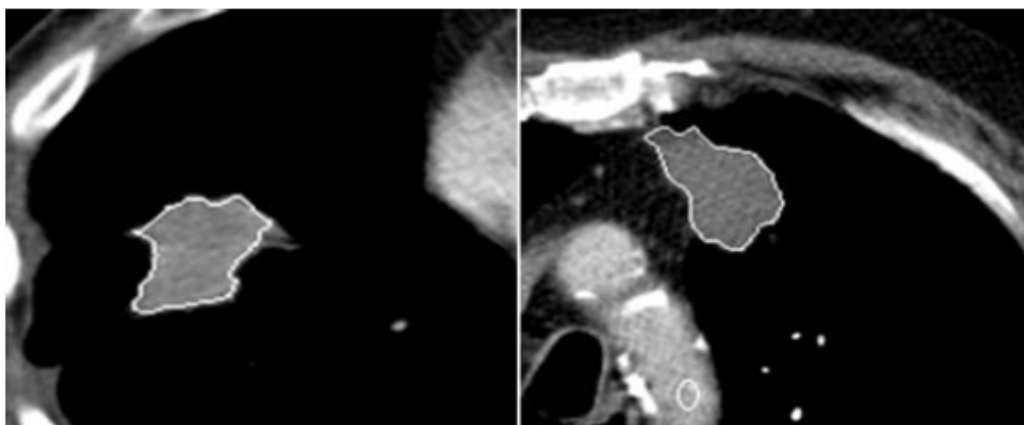


Figura 18 : Esempio di lesione facile.

Medio

L'utilizzo della codifica "Media" indica che il riconoscimento della lesione è più complesso, rispetto alla precedente casistica, questo perché la lesione potrebbe trovarsi:

1. in prossimità dell'ilo polmonare;
2. confinante con la parete cardiaca;
3. confinante con altre lesioni secondarie.

Se la lesione si trova in prossimità dell'ilo polmonare (che è la regione del polmone dove si ramificano i bronchi e vi passano le arterie e le vene polmonari) il riconoscimento della lesione risulta complesso. Infatti, quando si sviluppa una patologia in questa regione riesce difficile riuscire a delimitare la lesione, escludendo le vie bronchiali e i vasi sanguigni, (come è visibile nell'esempio di fig.n.19) perché il tessuto polmonare tende a infiammarsi ed a confondersi con la lesione.

L'unica soluzione percorribile è attendere l'arrivo del MdC, durante la perfusione, per poter identificare e delimitare con maggior precisione i margini della lesione.

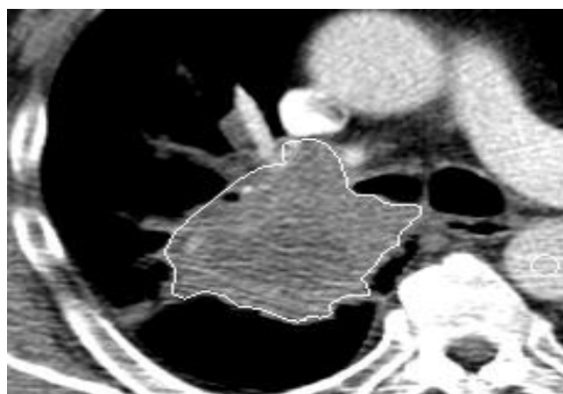


Figura 19 : Esempio di lesione media.

Anche nel caso in cui la lesione confini con la parete cardiaca, un esempio nella fig. n. 20, bisogna attendere l'arrivo del MdC per riuscire a delimitare il perimetro con precisione ed accuratezza in quanto, il tessuto cardiaco tende a illuminarsi maggiormente all'arrivo del MdC, a causa del riempimento dei vasi sanguigni e degli scompartimenti atriali e ventricolari.

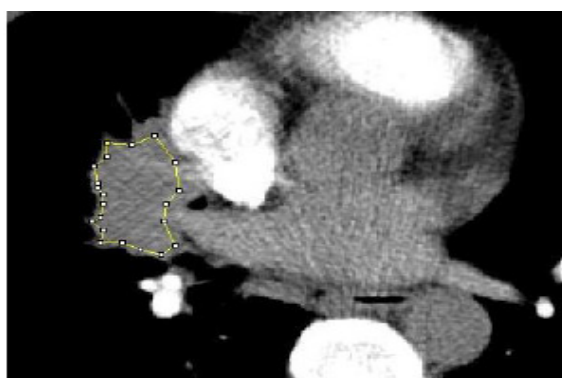


Figura 20 : Esempio di lesione media

Ulteriori complicazioni si hanno quando la lesione primaria confina con lesioni secondarie (riferimento in fig. n.21). In questo caso, l'arrivo del MdC può non aiutare a sufficienza, per identificare e delimitare la lesione.

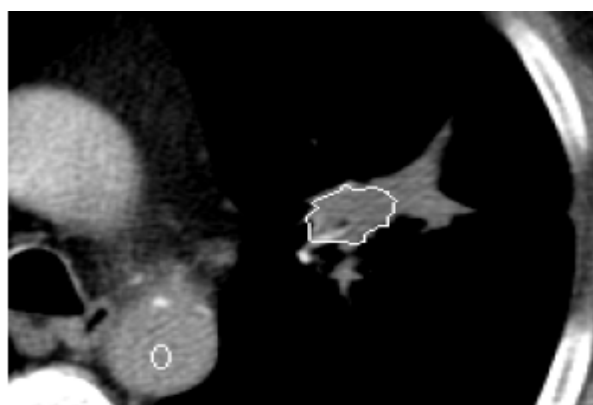


Figura 21 : Esempio di lesione media

Difficile

Le lesioni più complesse, le più difficili da segmentare hanno almeno una delle seguenti caratteristiche:

- si sovrappongono ad altri organi;
- sono circondate da tessuto polmonare infiammato; (esempio in fig n.22)

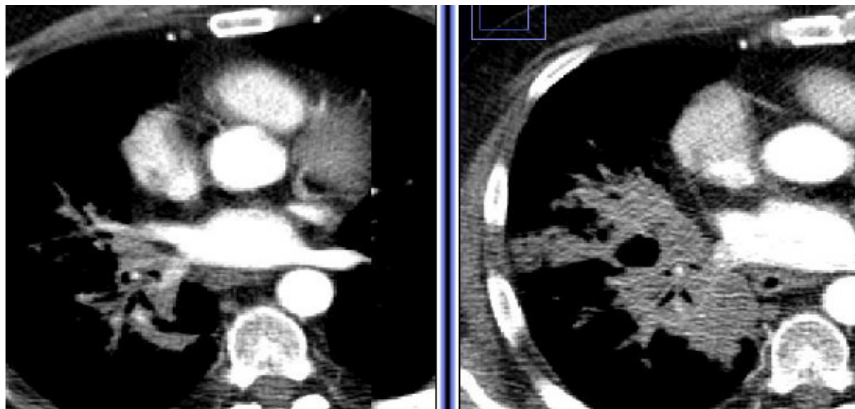


Figura 22 : Esempio di lesione difficile.

3.1.2 Creazione delle sequenze di ROI

Dopo che il radiologo ha segmentato e salvato la *ROI_sdr* sulla sezione di riferimento della lesione, il passo successivo è stato quello di traslarla su ogni immagine dello *stack*, per creare la sequenza di ROI. Questa fase non ha richiesto, necessariamente, l'intervento del medico radiologo, infatti, per lesioni codificate “facili”, in cui la ROI si sovrappone esattamente alla lesione che è di facile identificazione, l'operazione è stata eseguita da me ed altri colleghi ingegneri biomedici. Per le lesioni codificate “medie e difficili” è stato, invece, indispensabile ricorrere all'esperienza e alla manualità del medico radiologo per distinguere il tessuto neoplastico da quello sano e garantire qualità ed affidabilità all'analisi. Ogni qualvolta la ROI è stata traslata sulla successiva immagine, prima di salvarla è stata rinominata col nome dell'immagine associata, in tal modo, ogni ROI è stata associata ad una specifica immagine dello *stack* (come visibile nell'esempio rappresentato in Figura 23) ottenendo una sequenza di 22 ROI, una per ciascun istante di acquisizione.

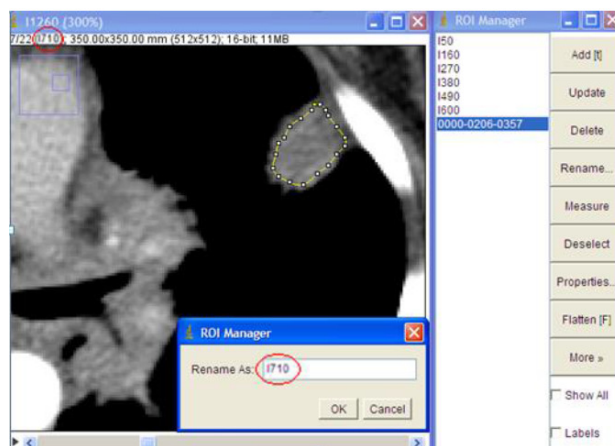


Figura 23: es. della procedura eseguita per il posizionamento e la rinomina della ROI su ogni immagine dello *stack*.

Per determinare quali sequenze di ROI creare per i metodi da applicare sulla lesione in esame, in primo luogo è stato necessario verificare che il paziente avesse trattenuto il respiro durante la fase di acquisizione delle immagini TCp, poiché, in caso contrario, si sarebbe verificato lo spostamento della lesione. Questo controllo è stato possibile realizzarlo con velocità e semplicità, grazie allo scorrimento manuale dello *stack* di immagini.

Per tutto il numeroso campione (n.42 pazienti) esaminato si è osservato che, nonostante il paziente si sforzasse di mantenere lo stato di apnea per tutta la durata dell'acquisizione delle immagini la lesione, a causa dei rilassamenti accompagnati da contrazioni muscolari inconsce esercitate, tende sempre a muoversi sul piano XY, anche se solo per pochi millimetri. Pertanto, per ogni esame è stato necessario effettuare il tracciamento delle ROI secondo i metodi *fixed* e *manual* mentre, per quei casi in cui si è verificato lo spostamento della lesione anche lungo l'asse Z, oltre che sul piano XY, sono state tracciate anche le ROI con le sequenze *Best* e *ID*.

Ogni metodo ha richiesto l'attivazione di una diversa procedura per la creazione della sequenza di ROI, in dettaglio:

- Metodo *Fixed* - una volta caricata la *ROI_sdr*, è stato sufficiente scorrere le immagini dello stack col cursore del mouse e, per ogni immagine, aggiungere la ROI alla lista rinominandola col nome dell'immagine (vedi esempio in figura n. 24);

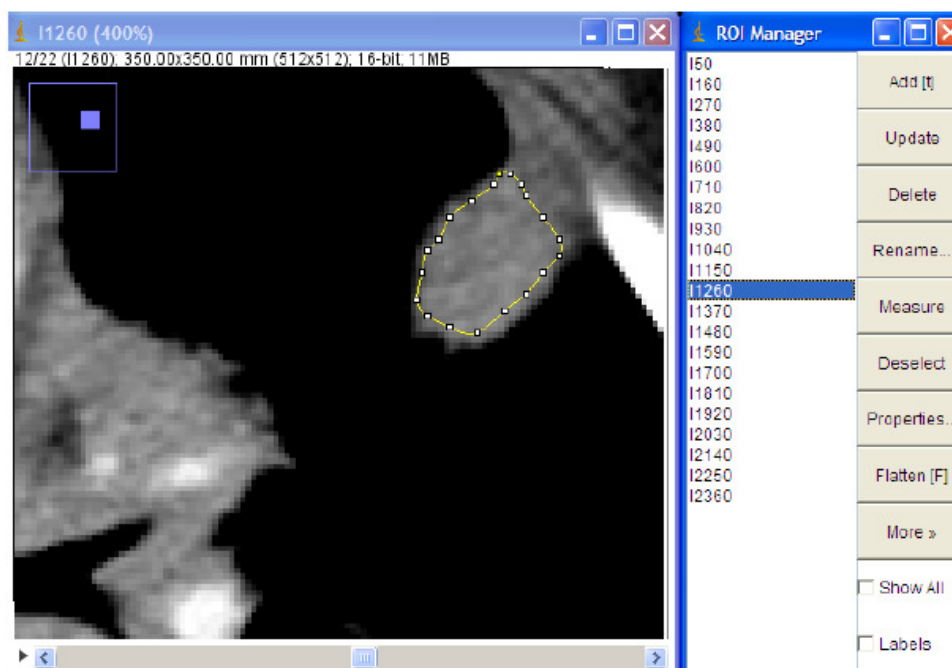


Figura 24: esempio di creazione della sequenza di ROI con il metodo *fixed*.

- Metodo *Manual* - dove è stato necessario, la *ROI_sdr* è stata traslata sul piano XY per ogni immagine dello stack, per ricentrarla sulla lesione. La fig. n.25, mostrando tutte le ROI riposizionate, evidenzia lo spostamento, nel tempo, della lesione durante la fase di acquisizione, rispetto alla ROI tracciata sulla SdR. Confrontando le evidenze della fig. 25 (metodo *Manual*) con quelle espresse dalla fig.n. 24 (metodo *Fixed*) è possibile dedurre che per la *Fixed* il 30-40% dei dati racchiudono tessuto sano e/o aria e, pertanto, compromettono il calcolo dei risultati perfusionali (vedi esempio in fig. n. 25).

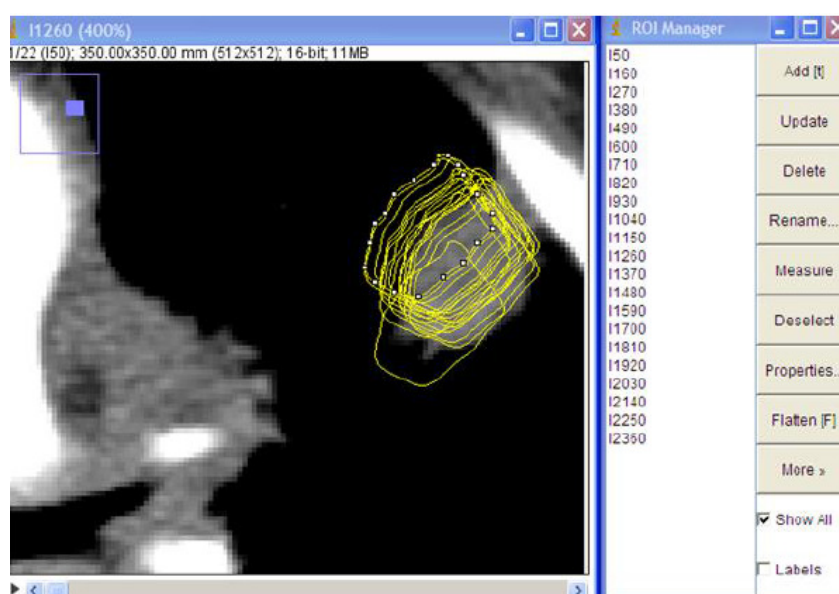


Figura 25: esempio di creazione della sequenza di ROI con il metodo *manual*;

- Metodo *Best* (B) - per l'applicazione di questo metodo non è stato possibile utilizzare le sole immagini dello *stack*, in quanto poiché la lesione si è spostata anche lungo l'asse Z, è stato indispensabile ricercare la sezione della lesione in esame nelle *slice* adiacenti alla posizione della SdR. Considerando come Z la posizione della SdR, le *slice* adiacenti alla SdR si trovano in posizione Z-n per le precedenti e Z+n per le successive alla posizione della SdR (con N pari al numero di *slice* da traslare). In Fig. n. 26 è rappresentato un esempio di quanto appena descritto.

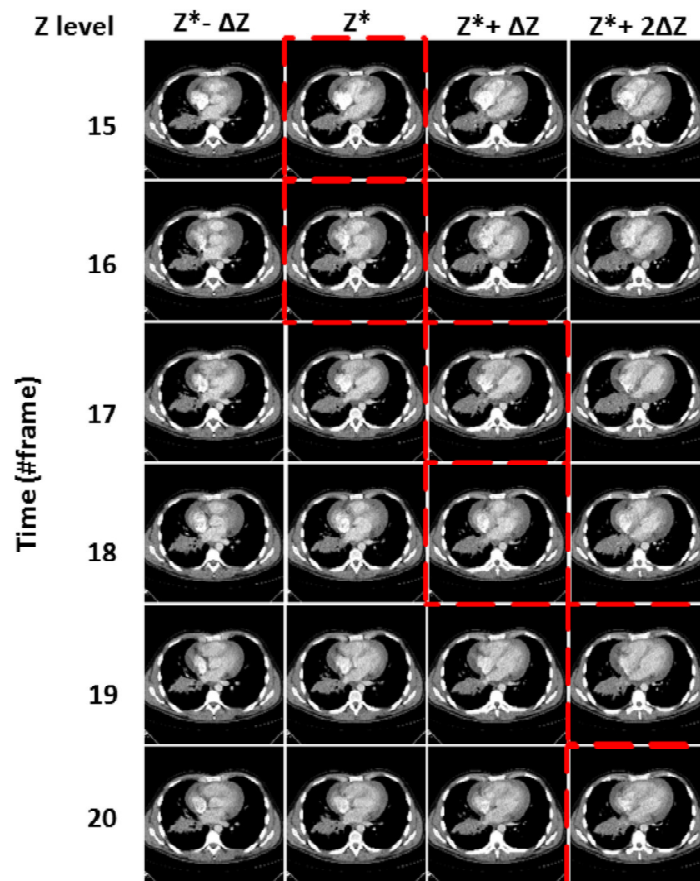


Figura 26: Esempio di creazione della sequenza ROI con il metodo *best*. La cornice rossa indica la slice scelta per seguire la lesione nelle slice adiacenti alla Z di riferimento [6].

Identificata la nuova sequenza di immagini, su ognuna è stata traslata la ROI sul piano XY, per garantire il miglior centramento della lesione. Questa fase è stata realizzata con l'intervento del medico radiologo, il cui ausilio è stato fondamentale per determinare, con precisione e accuratezza, la nuova sequenza di immagini, soprattutto in presenza di lesioni molto grandi, dove nelle varie Z le

sezioni della lesione erano simili a quella della SdR , sia per dimensioni che per concentrazione.

- Metodo *ID*- per questo metodo è stata utilizzata la sequenza di immagini usata precedentemente per la *Best* ma, non è stata effettuata nessuna traslazione sul piano XY delle immagini, mantenendo fissa la posizione della ROI. Ogni sequenza di ROI creata è stata salvata col nome: “metodo_*track*” (un esempio: *best_track*) in modo da rintracciarla facilmente. Successivamente, sono state archiviate nella cartella del paziente “ROI di riferimento”.

3.1.3 Creazione dei file di batch

Durante la fase di preparazione dei dati, è stato subito evidente che, per archiviare tutti i dati necessari per l’elaborazione dei risultati, fosse necessario avere a disposizione grandi quantità di memoria. I dati che maggiormente occupano spazio sono le immagini; infatti, per un esame TCp, in media, servono 130Mb di memoria su un *hard disk*. Inizialmente, per ogni sequenza di ROI salvata, si creava una nuova sequenza di immagini che conteneva le sole immagini dello *stack* (ovvero della posizione dove la ROI era stata salvata). Questa modalità però provocava un incremento della memoria necessaria utilizzata, superiore ai 200Mb. Per ridurre la memoria necessaria per l’archiviazione dei dati e, nel contempo, diminuire i tempi necessari alla preparazione degli *stack*, (dato che le immagini dello *stack* sono presenti nelle 242 immagini dell’esame TCp) è stato creato un file: il *file di batch* che associa ogni ROI alla rispettiva immagine sulla quale è stata tracciata, rendendola univoca per l’esame specifico. I *file di batch* sono dei *file* testo, contenenti l’*array*, con i nomi delle ROI. Inizialmente, questo file veniva creato manualmente e questo aumentava sensibilmente la possibilità di errore umano nella fase di trascrizione dei nomi delle ROI, con ricadute negative sull’affidabilità dei risultati finali. Questo problema è stato brillantemente risolto, grazie ad un programma (sviluppato dal Ing. Jr Josè Silvio Falla durante il suo percorso di tesi [12]). I *batch file* necessari per poter sviluppare tutti e quattro i metodi sono due: il *batch_std* e il *batch_best*. Il primo serve per poter associare le sequenze *fixed_track* e *manual_track* con le immagini dello *stack* (senza spostamenti nelle *slice* adiacenti lungo l’asse Z) per poter eseguire i metodi *fixed* e *manual*; invece, il secondo associa la *best_track* e la *ID_track* con le immagini

del nuovo *stack* (con spostamenti nelle adiacenti *slice*) per poter eseguire i metodi *best* e *1D*.

3.1.4 Creazione delle mappe colorimetriche

In ragione dell'applicazione del *software GUI* realizzato da CVG, è stato possibile elaborare, per ogni metodo di tracciamento, delle ROI con i risultati perfusionali di ciascun esame e generare le mappe colorimetriche. Nelle Fig. n. 27-29 sono riportati esempi di sequenze di ROI, elaborate con i quattro metodi e le relative mappe colorimetriche.

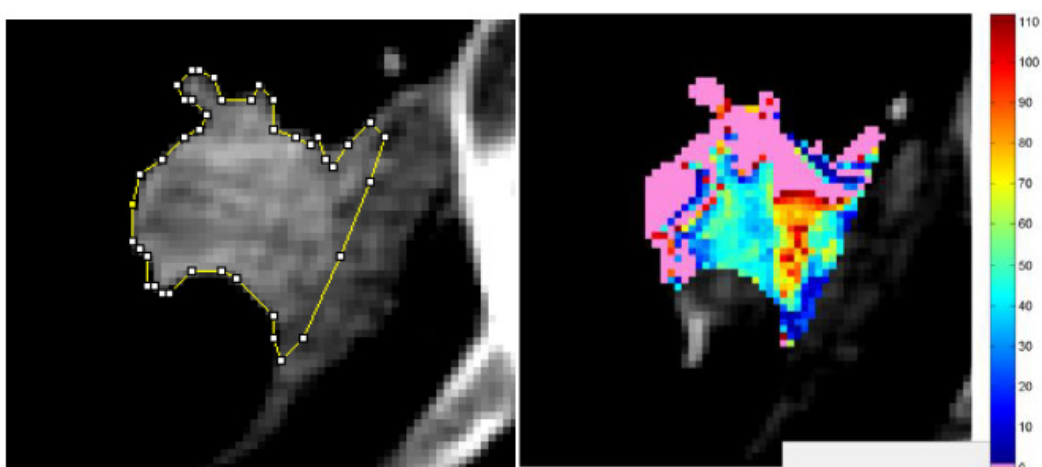


Figura 27: esempio del metodo *fixed_track* con rispettiva mappa colorimetrica. A sinistra è visibile la ROI_sdr usata, mentre a destra la mappa colorimetrica.

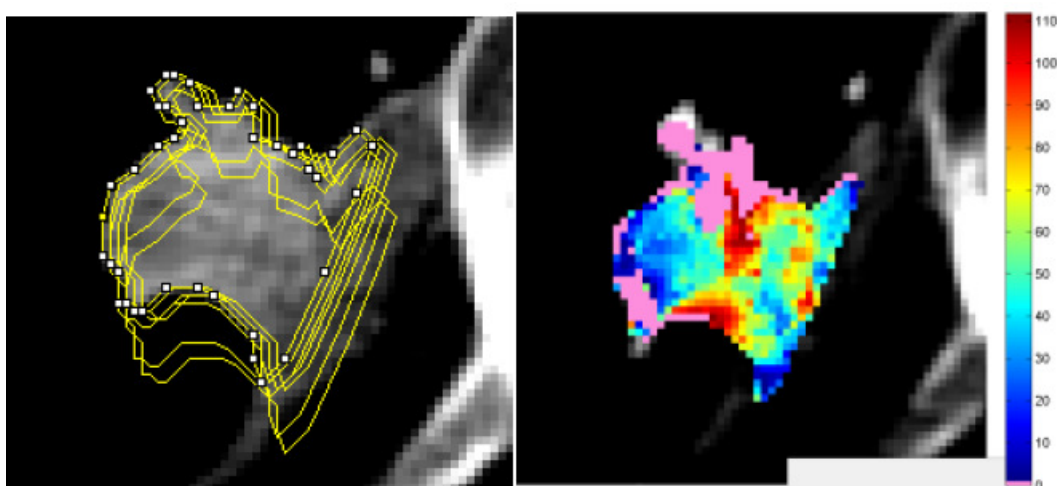


Figura 28: elaborazione del metodo *manual* con rispettiva mappa colorimetrica. A sinistra è visibile l'insieme delle ROI delle *manual_track*, traslate sul piano XY, mentre a destra la mappa colorimetrica ottenuta.

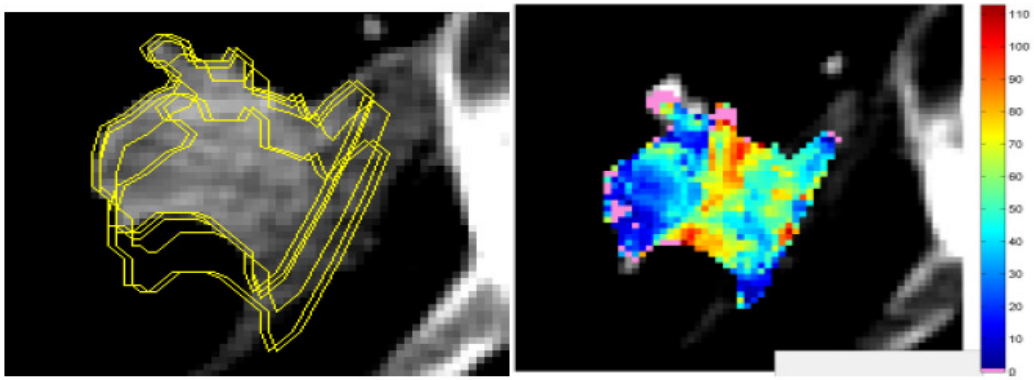


Figura 29: elaborazione del metodo *best* con rispettiva mappa colorimetrica. A sinistra è visibile l'insieme delle ROI della *best_track*, traslate sul piano XY e lungo l'asse Z, mentre a destra la mappa colorimetrica ottenuta.

Le mappe perfusionali ottenute sono state esaminate assieme ai medici radiologi. Questa fase è stata molto importante per tutto il team di progetto, in quanto ha permesso agli ingegneri di testare l'efficacia del *software* utilizzato, e ai radiologi, attraverso l'esame delle mappe colorimetriche create coi differenti metodi di elaborazione, di individuare la mappa che rispecchiasse maggiormente la prognosi precedentemente stimata, affinando così le conoscenze sulla lesione in esame.

3.2 Organizzazione dei dati

La gestione dei dati e la loro archiviazione, necessaria per la costruzione del catalogo, è avvenuta attraverso la definizione di protocolli e procedure che hanno riguardato tutte le fasi dello studio, dall'esecuzione dell'esame all'analisi dei risultati ottenuti.

Sono stati concordati, in dettaglio:

- Il protocollo per l'acquisizione delle immagini e dei dati del paziente, svolto insieme agli operatori tecnici radiologi del reparto;
- La procedura di organizzazione e archiviazione del materiale necessario all'elaborazione dati degli esami perfusionali;
- Il protocollo per il primo interfacciamento con il medico radiologo, in merito all'acquisizione delle informazioni sulle lesioni dei vari studi perfusionali, la scelta della SdR e la segmentazione della ROI;
- La procedura di preparazione dei dati necessari per la gestione dei risultati finali, inseriti successivamente nel catalogo.

3.3 Sistema di catalogazione

La catalogazione dei dati raccolti è avvenuta utilizzando riquadri tabellari, attraverso la sequenza di seguito riportata (in fig.n. 30 è riportato un esempio di uno degli esami catalogati) :

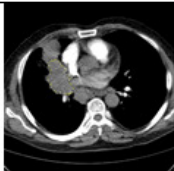

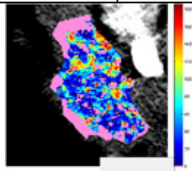
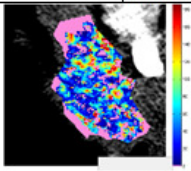
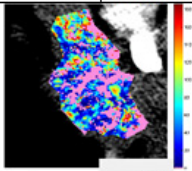
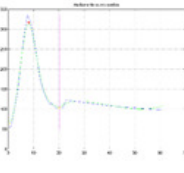
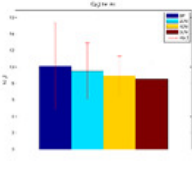
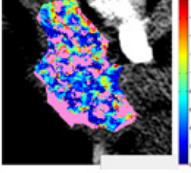
ID ...	CT5	61.09s				6/11
Originale	Zoom Lesione	Fixed22	Manual 22	Best 22		
						
		$E[\mu(s)]=10.51$ $\sigma[\mu(s)]=5.82$	$E[\mu(s)]=9.96$ $\sigma[\mu(s)]=4.35$	$E[\mu(s)]=8.64$ $\sigma[\mu(s)]=2.06$		
Info Esame	Curva aortica	Istogramma	1D 22	Informaz. cliniche		
Area les:4724 pixel Area les:2207.53mm2 Asse min:39.60mm Asse mag:75.11mm Z coverage:8				Età:61 Sesso: M FU: 5 PET: NO Tipo lesione: <u>ca.squamocellulare</u> G3 <u>Stadio:IV</u>		
			$E[\mu(s)]=9.44$ $\sigma[\mu(s)]=3.60$			
Considerazioni cliniche						
La lesione è peggiorata ulteriormente poiché si è unita alla lesione secondaria generando un'infiammazione nel tessuto circostante.						
Considerazioni sulla ROI						
A causa del peggioramento della lesione è stata tracciata una ROI che comprende anche parte della lesione secondaria.						

Figura 30: Esempio di un esame catalogato.

- l'ID del paziente, corrisponde al numero identificativo della persona sottoposta all'esame TCp. Segue la sigla "CT0", se l'immagine catalogata è relativa ad un esame baseline; oppure "CTN", se l'immagine è relativa ad un *follow-up* "N" è il numero identificativo del follow-up (per ragioni di privacy, l'ID del paziente è stato modificato, rispetto all'originale).

ID CT5

- il tempo di esecuzione dell'esame misurato in "s"(secondi).

61.09 s

- la SdR scelta dal medico radiologo.

6/11

- l'immagine TC originale (vedi fig. n. 31).



Figura 31: Immagine della TCp originale

- lo zoom della lesione (vedi fig.n. 32).



Figura 32: Immagine dello zoom della lesione

- le mappe colorimetriche, calcolate con l'applicazione di tutti e quattro i metodi di allineamento, sono integrate da due indici di errore: la media dei residui (μE) e la deviazione standard (σE). Inoltre, accanto al tipo di allineamento utilizzato per creare la mappa colorimetrica (es. in fig. n.33 "Fixed 22") viene aggiunto anche il numero di slice utilizzato per ogni metodo. Il colore rosa, all'interno della mappa colorimetrica, segnala la presenza di errore molto alto e, pertanto, oscura i valori di perfusione ottenuti che potrebbero essere fuorvianti. Le gradazioni di colore indicano il crescere della perfusione, dal blu (poco perfusa) al rosso (massimo della perfusione).

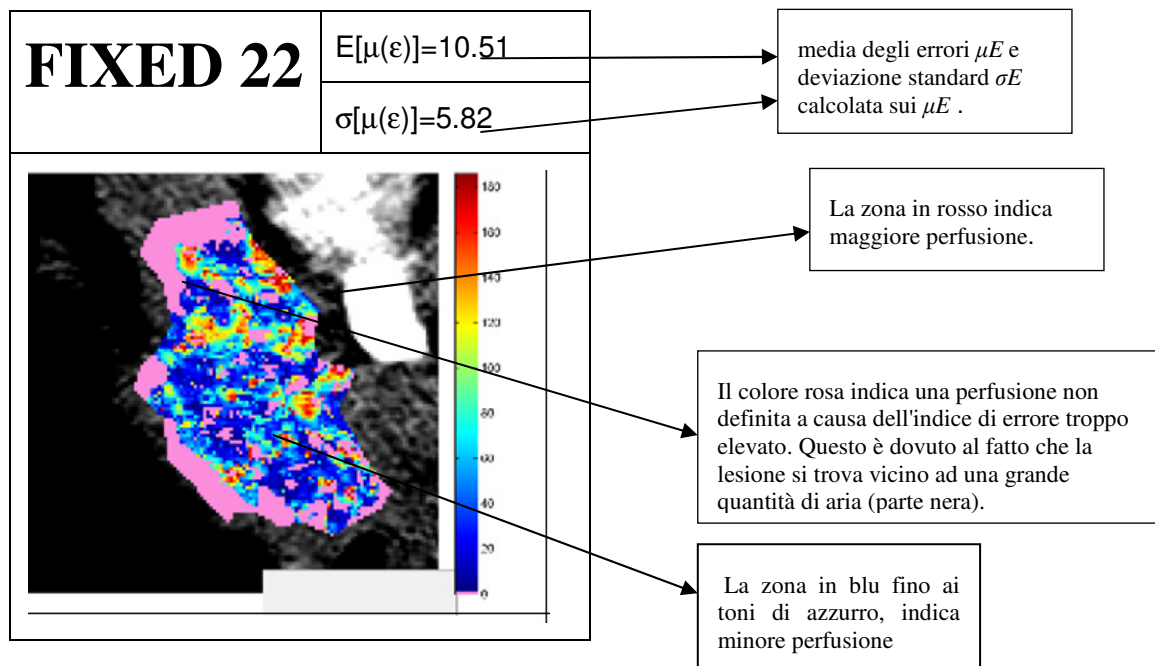


Figura 33

- le informazioni sulle dimensioni della lesione e lo *Z coverage*, ovvero, il valore che indica in quante *slice* è visibile la lesione (vedi fig. n.34).

Info Esame
Area les: 4724 pixel
Area les: 2207.53 mm ²
Asse min: 39.60 mm
Asse mag: 75.11 mm
Z coverage: 8

Figura 34

- la curva aortica viene inserita in quanto permette al *software GUI* di avere un riferimento perfusionale corretto, non una parte di tessuto polmonare qualsiasi, nel quale è possibile trovare aria, tessuto etc.(vedi fig.n.35)

Curva aortica

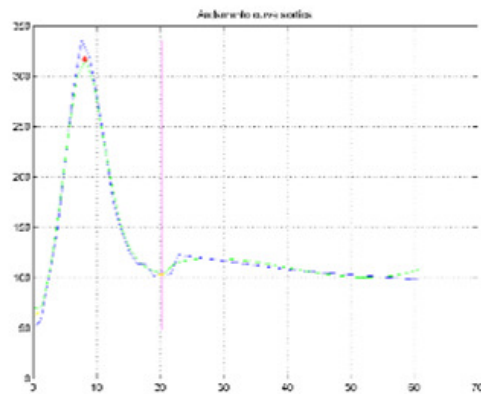


Figura 35

- l'istogramma è un elemento statistico, individua quattro barre che indicano, a partire dalla sinistra (vedi fig. n. 36) :
 - la barra in blu scuro è l'allineamento *Fixed*
 - la barra in azzurro è l'allineamento *Manual*
 - la barra in giallo è l'allineamento *ID*
 - la barra in marrone è l'allineamento *Best*.

L'altezza delle barre rappresenta la media dei residui (μ_ε), vale a dire, il valore medio dell'indice di errore. Quest'ultimo diminuisce, a partire d'allineamento *Fixed*, fino ad arrivare all'allineamento *Best*. Questa decremento dell'indice di errore è la riprova di quanto già detto, ovvero che l'allineamento *Best* risulta il metodo migliore per il calcolo di mappe colorimetriche aderenti alla reale perfusione della lesione.

In particolare, è da notare (es. fig. n. 36) che sulle barre colorate c'è anche una barretta rossa verticale che indica la " σ_ε ", ovvero, la deviazione standard. Anche quest'ultima decresce, a partire dall'allineamento *Fixed*, fino ad arrivare all'allineamento *Best*.

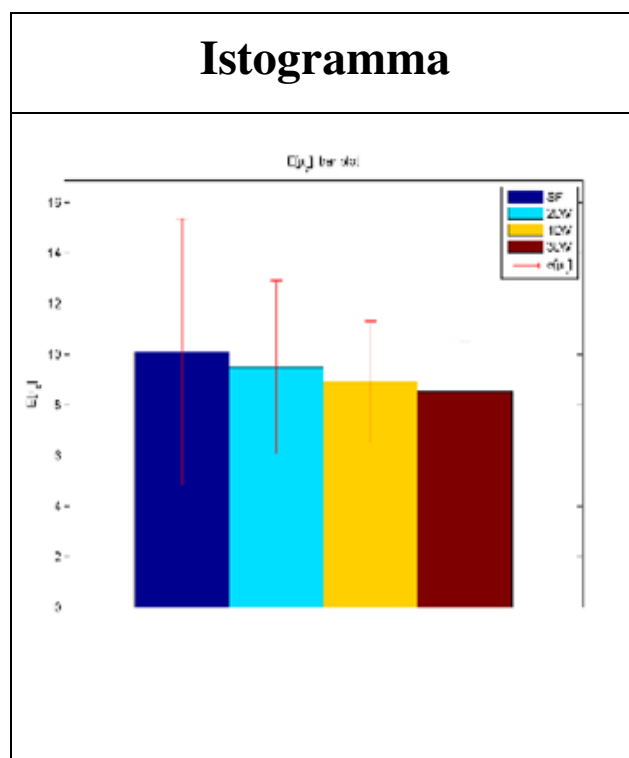


Figura 36

Per analizzare il significato degli indici di errore σ_e e μ_e , inseriti sulle mappe colorimetriche e utilizzati per creare l'istogramma, è utile procedere all'analisi del grafico che segue (fig. n. 37). In esso, sono evidenziate due curve: una rossa (sigmoide) e una blu (curva reale). L'asse X indica la variabile "tempo"; l'asse Y "i valori di perfusione di ogni pixel in HU, nei vari istanti temporali". Per calcolare il valore di perfusione del *pixel*, è necessario conoscere la pendenza della curva (evidenziata in blu). Per calcolarla bisogna disegnare una curva teorica, in questo caso la sigmoide (evidenziata in rosso) che è la curva che meglio "fitta", ovvero, che meglio segue l'andamento dei punti ma, non necessariamente, passa per essi.

Il valore di perfusione è il risultato del seguente rapporto:

$$\frac{\text{valore della pendenza della curva rossa sigmoideale}}{\text{valore del picco di aorta}}$$

Per questa ragione nel catalogo, è sempre inserita la curva dell'aorta. Dato che viene calcolata la pendenza della curva rossa (sigmoide), che non è la curva reale, è necessario definire il margine di errore. Questo margine viene calcolato attraverso l'applicazione dell'indice di errore: valore medio dei residui " μ_e ". L'indice misura la media dei residui ovvero delle distanze, in

ciascun istante di tempo, tra la curva blu (curva reale) e la curva rossa (sigmoide). Più è distante la curva blu dalla curva rossa, più si otterrà un valore di perfusione lontano da quello reale.

La " σ_ϵ " misura la deviazione standard dei residui " μ_ϵ ". Questo indice quantitativo da un'idea di quanto variano i residui nel tempo.

Questi due indici sono fondamentali per stabilire l'affidabilità del valore di perfusione ottenuto nella mappa colorimetrica. Infatti, se si registra un valore di " μ_ϵ " elevato, vuol dire che la curva rossa si discosta molto da quella blu e, pertanto, si avrà un valore di perfusione poco affidabile. Di contro, se la curva blu ha molte e costanti fluttuazioni la " σ_ϵ " sarà bassa, in quanto quest'ultima misura le variazioni dei residui, ma non è detto che il valore di perfusione sarà attendibile.

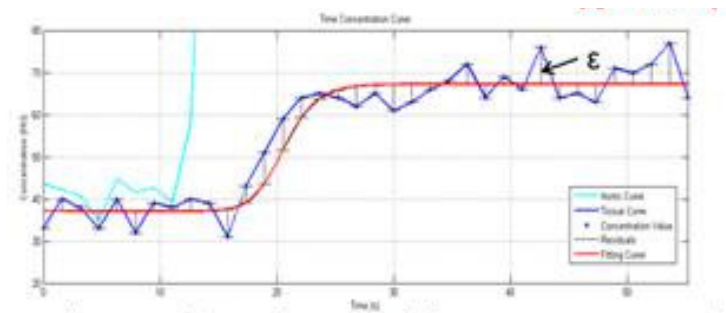


Figura 37

- le informazioni cliniche relative al paziente e alla lesione (es. in fig. n 38)

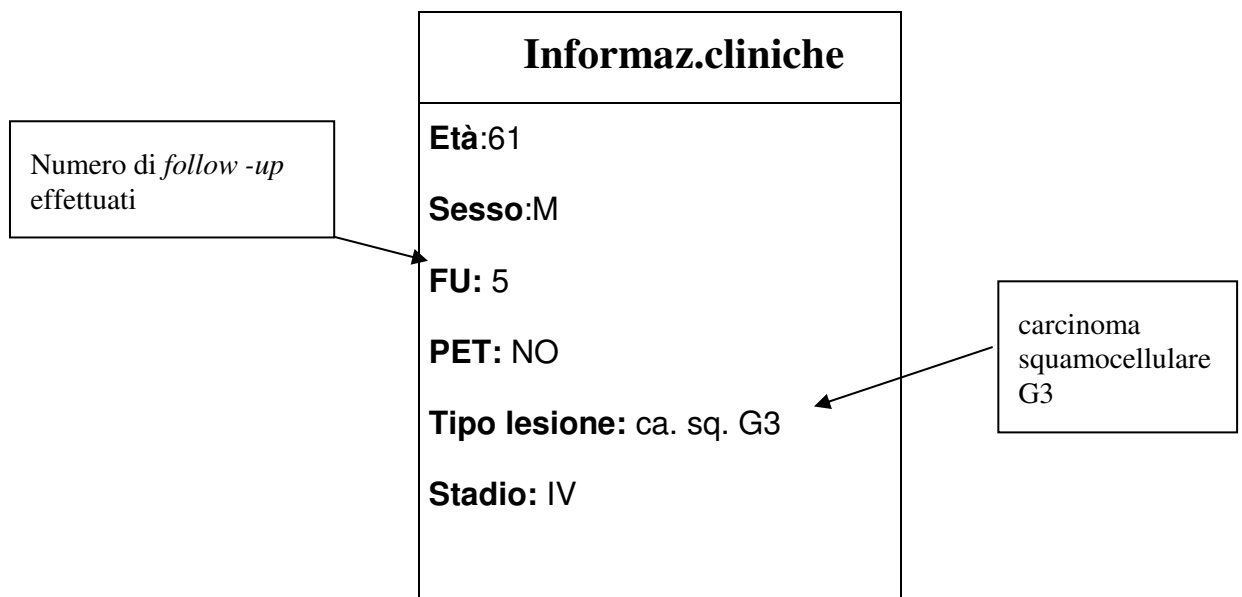


Figura 38

- le considerazioni cliniche, del medico radiologo, sulla neoplasia.

Considerazioni cliniche
La lesione è peggiorata ulteriormente poiché si è unita alla lesione secondaria, generando un'infiammazione nel tessuto circostante.
- le considerazioni sulla ROI in cui il medico radiologo descrive se ci sono state o meno difficoltà nel tracciarla.
Considerazioni sulla ROI
A causa del peggioramento della lesione, è stata tracciata una ROI che comprende anche parte della lesione secondaria.

4. Risultati

Per motivi di privacy in questo elaborato ogni esame analizzato e catalogato viene citato con un nome fittizio, diverso dall'originale; in particolare, gli esami sono identificati con un numero, assegnato in ordine casuale (es. ID 1) a cui segue l'acronimo: CT0 (se l'immagine è relativa ad un esame *baseline*) oppure, CTN (se l'immagine è relativa ad un *follow-up* N, numero identificativo del *follow-up* preso in considerazione). Inoltre, sempre per le stesse considerazioni, i commenti e le considerazioni dei medici radiologi, coinvolti nello studio, sono riportate in modo anonimo.

4.1 Statistiche dei casi catalogati

Si è detto che il campione statistico, oggetto di studio nel catalogo, è stato composto attraverso l'applicazione del protocollo: 162.04, istituito da IRCCS-IRST. I pazienti sono stati selezionati da una commissione di medici oncologi, attraverso la definizione di specifici requisiti a cui hanno dovuto corrispondere, per essere ritenuti idonei ed entrare a far parte dei casi studio.

Il paziente, inserito nel protocollo, è stato sottoposto ad una prima seduta perfusionale (detta *baseline*) in cui è stato verificato lo stato della lesione, prima dell'inizio dei cicli terapeutici. Successivamente, in base al tipo di terapia utilizzata, il paziente ha sostenuto sedute di controllo (dette *follow-up*) realizzate ad intervalli di due e/o sei mesi. Durante questi *step* di controllo, si è proceduto alla verifica di eventuali variazioni morfologiche ed emodinamiche subite dalla lesione e, in ragione delle informazioni emerse, il medico oncologo ha deciso se continuare con la stessa terapia o modificarla per massimizzarne l'efficacia.

Il campione risulta composto da n. 42 pazienti di cui 14 donne e 28 uomini. Di tutti, solo n. 15 pazienti hanno potuto sostenere le successive sedute di controllo (*follow-up*); per 18 pazienti è risultato funzionale procedere alla PET (per 2 casi, inseriti nel catalogo, non si è riusciti a reperire questa informazione).

Per quanto concerne le informazioni cliniche raccolte, le lesioni riscontrate sui pazienti sono così suddivise:

- 23 adenocarcinoma (adk)
- 3 adenocarcinoma mutato con il gene EFGR (adk EFGR)

- 3 carcinoma polmonare a cellule squamose (Ca. Sq.)
- 3 squamocellulare (Sq.)
- 1 adenocarcinoma linfadenomegalia (linfo adk)
- 1 neoplasia polmonare a piccole cellule (SCLC)
- 1 carcinoma non altrimenti specificato (Ca. NOS)
- 1 microcitoma istotico con peggior prognosi
- 1 carcinoma polmonare non microcistico (NSCLC)
- 1 adenocarcinoma polmonare non microcistico (adk NSCLC)
- 1 adenocarcinoma squamocellulare (adk Sq.)
- 1 adenocarcinoma mucinoso (adk mucinoso)
- 1 nodulo polmonare
- 1 adenocarcinoma cellulare (adk cellulare).

Di seguito, la tabella n.1 che mostra una panoramica di dettaglio dei dati raccolti per ogni paziente, oggetto di studio nel catalogo:

Codice Paziente	Età	Sesso	<i>follow up</i>	Pet	Tipo Lesione	Stadio
ID 1	36	m	0	si	adk	IV
ID 2	38	f	0	no	adk NSCLC	IV
ID 3	42	m	0	si	adk	IIIA
ID 4	44	m	1	si	adk	NP
ID 5	47	f	0	no	NSCLC	NP
ID 6	48	f	2	si	adk mucinoso	IV
ID 7	50	f	0	no	adk	IV
ID 8	56	m	1	no	adk non mutato	IV
ID 9	57	f	0	si	adk	IIIB
ID 10	61	m	5	no	ca.squamocellulare G3	IV
ID 11	62	f	1	no	adk EGFR W1	IV
ID 12	62	m	0	no	Sq.G2	IIIB
ID 13	62	m	1	si	linfadenomrgalia adk G2-3	IB
ID 14	62	m	0	si	adk	NP
ID 15	62	m	0	si	adksquamocellulare	NP
ID 16	62	f	0	NP	adk cellulare	NP
ID 17	63	m	1	si	adk	NP
ID 18	66	m	0	no	adk G3	IV
ID 19	66	m	0	si	ca.squamocellulare G2	NP
ID 20	69	m	5	si	Cq.Sq.G3	NP
ID 21	69	m	2	no	adk	IV
ID 22	69	m	1	si	adk	NP
ID 23	69	m	2	si	squamocellulare dx	NP
ID 24	69	m	0	NP	microcitoma istotipo	NP
ID 25	71	m	0	no	adk G1	NP
ID 26	71	f	1	no	adk G2	IV
ID 27	72	m	0	si	squamocellulare G2-3	IV
ID 28	72	m	0	no	lesione CA.NOS	IV
ID 29	73	f	0	no	adk EGFR mutato	IV
ID 30	74	f	3	no	adk	IV
ID 31	74	m	0	no	adk	IV
ID 32	74	m	0	si	adk	NP
ID 33	74	f	0	no	adk G3	IV
ID 34	75	m	1	si	nodulo polmonare	NP
ID 35	75	m	0	no	adk	IV
ID 36	76	f	0	no	SCLC	IV
ID 37	78	m	0	no	adk	NP
ID 38	79	m	0	no	adk	NP
ID 39	79	m	1	si	adk EFGRLNN	NP
ID 40	79	f	0	no	adk	IV
ID 41	80	m	0	si	adk	IV
ID 42	81	f	0	no	adk	NP

Tabella n°1

Segue una rappresentazione grafica, di sintesi, dei dati evidenziati nella tab.n.1.

Nel grafico n°1 viene rappresentata la distribuzione del Campione tra uomini e donne. Risulta evidente, in questa casistica, una preponderanza del numero di uomini (esattamente il doppio rispetto alle donne) affetti da tumore al polmone. Tuttavia, i dati di questi ultimi anni, evidenziati dal Ministero della Salute, attraverso il sistema di sorveglianza oncologica (incentrato sui Registri dei Tumori) fotografano un andamento di crescita differente tra uomini e donne, in termini di incidenza e di mortalità, per il tumore del polmone. I dati rilevati in Italia nel periodo 1970-2014 registrano una forte riduzione, dall'inizio degli anni novanta, per gli uomini ed un costante aumento per le donne. In particolare, per gli uomini l'incidenza e la mortalità si riducono in maniera più accentuata al Centro-Nord, dove i livelli in passato erano più alti, rispetto al Sud. Per le donne, invece, la situazione è diametralmente opposta; si misurano andamenti in crescita in tutte le aree italiane, con maggiore velocità nel Centro-Nord, rispetto al Sud. L'aumento dell'incidenza di tumore al polmone, nella popolazione femminile, di questi ultimi anni è in relazione all'andamento del principale fattore di rischio, il fumo di sigaretta. Le donne, storicamente, hanno iniziato a fumare più tardi rispetto agli uomini, ma la crescita percentuale di fumatrici che si registra, ogni anno, in tutte le regioni italiane, induce a stimare che nel tempo ci sarà una inversione di tendenza della curva di crescita di questo tumore tra uomini e donne.

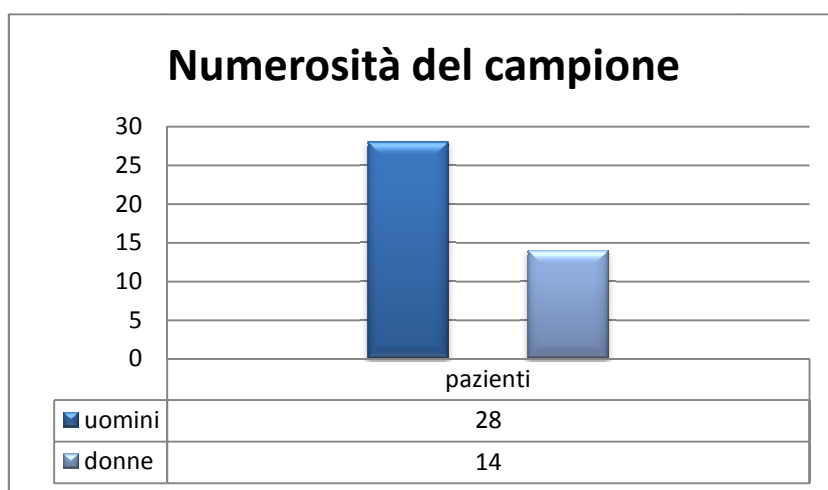


Grafico n. 1 – Viene evidenziata la numerosità del campione, n. 42 casi, e la ripartizione tra uomini (n.28) e donne (n.14).

Nel grafico n°2 e nella tabella n°2, i pazienti, oggetto di studio (n. 42), vengono suddivisi per range di età. L'andamento del grafico e della tabella evidenziano una incidenza più alta di ammalati nella fascia di età (60 – 80) anni. In perfetta coerenza con gli andamenti denunciati dal Ministero della Salute che affermano che, in Italia, il tumore al polmone colpisce soprattutto le persone anziane. Solitamente la fascia di età più interessata è dai 60 ai 70 anni.

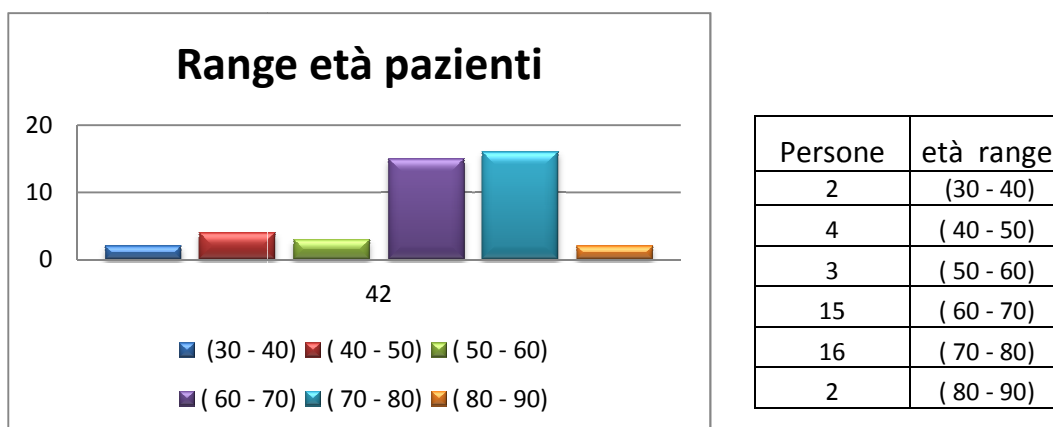


Grafico e Tabella n. 2 – Il campione viene suddiviso per range di età

Nel grafico n°3 è rappresentato il numero di pazienti che hanno avuto accesso ai follow up e il numero di pazienti che, invece, hanno effettuato solo l'analisi *baseline* (CT0). Dall'analisi del grafico si evince che, sul totale dei casi catalogati, solo 15 pazienti hanno potuto accedere ai *follow up*. Anche in questo caso, le evidenze dello studio confermano che il carcinoma polmonare ancora oggi ha tassi di mortalità elevati.

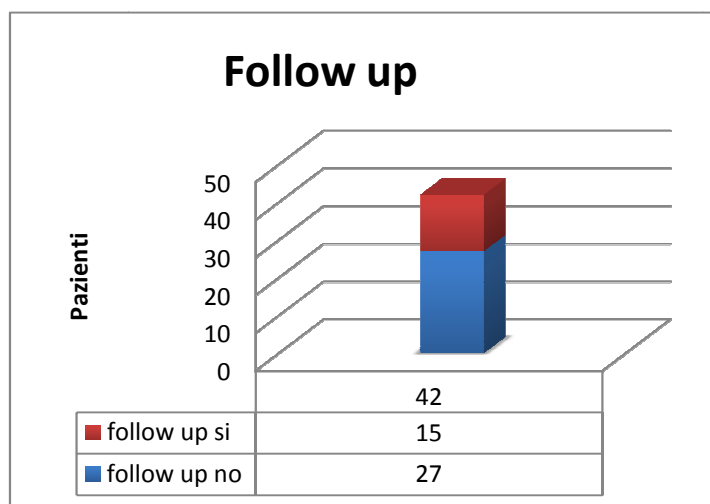


Grafico n. 3 – Del totale campione analizzato, solo 15 pazienti hanno potuto sottoporsi all'esame di *Follow up*

Nel grafico n°4 è rappresentato il numero di pazienti per cui è risultato opportuno procedere con l'analisi PET e il numero di pazienti per il quale invece non è risultato utile abbinarla all'analisi TCp.

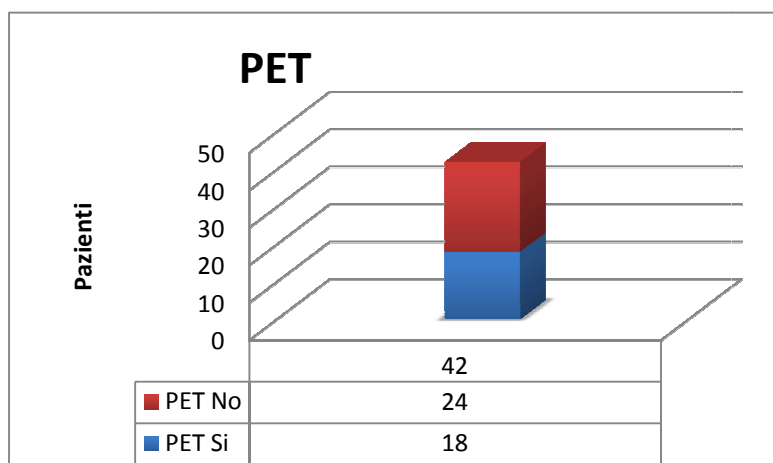


Grafico n. 4 – Del totale campione analizzato, per 18 pazienti è risultato opportuno procedere alla PET.

Id paziente	Area lesione nel CT0 (baseline) mm²	Area lesione nel CT1 (follow up 1) mm²	Area lesione nel CT2 (follow up 2) mm²	Area lesione nel CT3 (follow up 3) mm²	Area lesione nel CT4 (follow up 4) mm²	Area lesione nel CT5 (follow up 5) mm²	Area lesione media (Partendo dal CT0 fino al CTN effettuato) mm²	Deviazione standard dall'area baseline fino ai vari follow up
ID20	814.97	450.48	432.72	519.17	1099.55	1614.05	663.38	288.34
ID11	462.63	232.72	NP	NP	NP	NP	348.18	163.28
ID10	979.00	798.62	854.69	1098.74	1449.57	2207.53	1231.36	531.21
ID13	3351.95	1507.51	NP	NP	NP	NP	2429.73	1304.22
ID30	345.33	164.00	181.78	206.55	NP	NP	224.42	82.48
ID6	509.82	209.82	219.63	NP	NP	NP	313.09	170.44
ID21	348.61	289.26	196.26	NP	NP	NP	278.04	76.79
ID39	198.14	169.16	NP	NP	NP	NP	183.65	20.49
ID22	1996.77	870.58	NP	NP	NP	NP	1433.67	796.34
ID23	698.15	552.35	507.02	NP	NP	NP	585.84	99.87
ID17	3550.08	1974.81	NP	NP	NP	NP	2762.45	1113.88
ID39	339.26	433.19	NP	NP	NP	NP	386.23	66.42
ID4	63.09	44.86	NP	NP	NP	NP	54.00	12.89
ID26	46.73	47.20	NP	NP	NP	NP	47.00	0.33
ID8	284.54	194.40	NP	NP	NP	NP	293.47	63.73

Tabella n° 3

Nella tabella n°3 sono riportate per ogni studio:

- l' area della lesione
- il valore medio delle aree individuate durante i vari *follow up*
- la deviazione standard dall'area tra i vari *follow up*.

Le aree della lesione, a partire dal CT0 fino all'ultimo follow up effettuato dal paziente, sono espresse in mm².

Questa rilevazione statistica ha avuto la finalità di verificare se si è verificata una riduzione della lesione nel tempo e quindi misurare l'efficacia della terapia somministrata.

Operativamente, per tutti questi casi, sono stati incrociati i valori della tabella n°3 con quelli della tabella n°4.

Si riportano, di seguito, le considerazioni cliniche fatte dai medici radiologi nei vari *follow up* effettuati dal paziente.

Id paziente	Considerazioni cliniche sulla diminuzione dell'area della lesione e sulla perfusione nei vari <i>follow up</i>
ID20	La lesione passando dal CT0 al CT2 subisce una diminuzione sensibile della dimensione ma, a partire dalla CT3, l'area della lesione ha un aumento dimensionale progressivo lungo tutti i tre gli assi. Vi è una sensibile diminuzione globale di irrorazione sanguigna.
ID11	La lesione dal CT0 al CT1 subisce una riduzione dimensionale ma, la perfusione in CT1 è simile al CT0.
ID10	La lesione ha subito una lieve riduzione dimensionale nel CT1 e la perfusione risulta omogenea. Nel CT2 la lesione è peggiorata in quanto ha subito un aumento dimensionale; la perfusione è omogenea se si trascura la forte irrorazione sanguigna presente nei vasi. Nel CT3 la lesione è peggiorata ulteriormente, in termini di dimensioni. Il comportamento della perfusione è rimasto invariato rispetto a quello registrato nel CT2. Nel CT4 La lesione è molto peggiorata dal punto di vista

	<p>dimensionale. Per quanto riguarda la perfusione rimane invariata rispetto alla CT2 e alla CT3.</p> <p>Nel CT5 la lesione è peggiorata ulteriormente poiché si è unita ad una lesione secondaria (esclusa dallo studio perfusionale) generando un'inflammazione dei tessuti circostanti.</p>
ID13	La lesione nel CT1 si è ridotta rispetto all'esame di <i>baseline</i> .
ID30	La lesione nel CT1 si è ridotta rispetto all'esame di <i>baseline</i> , ma nei <i>follow up</i> successivi subisce un progressivo aumento fino ad arrivare quasi alle dimensioni iniziali della lesione.
ID6	<p>Nel CT1 si ha una riduzione dimensionale della lesione che è ben visibile. Anche il comportamento della lesione è cambiato in quanto non prende mai contrasto, in maniera evidente, sull'intera area della lesione ma solo in periferia (nella zona neoplastica centrale non si rileva un particolare <i>enhancement</i>).</p> <p>Nel CT2 sono più visibili le arterie coronarie. La lesione tende ad unirsi con la massa mediastinica centrale.</p>
ID21	<p>Dal CT1 al <i>follow up</i> CT2 la lesione si è molto ridotta: compare solo in una <i>slice</i> e si sovrappone al fegato con la successiva.</p> <p>Difficile identificare se quello che si vede nell'ultima <i>slice</i> sia fegato o lesione.</p>
ID39	Nel CT1 si ha un peggioramento della lesione dato un lieve aumento dimensionale (6-7 mm) e da un aumento dell'irregolarità del contorno (potrebbe essere presente tessuto infiammato attorno alla lesione). Inoltre, compare un versamento pleurico nella regione bassa del polmone.
ID22	Nel CT1 la lesione ha subito una notevole riduzione dimensionale, sia per la parte di tessuto infiammato che per la parte di tessuto tumorale. Ci sono degli artefatti dovuti al mezzo di contrasto che influiranno sulla mappa perfusionale.
ID23	Nel CT1 la lesione non sembra avere subito variazioni morfologiche. La perfusione sembra risultare uniforme con piccoli picchi periferici. Nel CT2 abbiamo una variazione della morfologia della lesione, probabilmente dovuta a una ripresa della malattia.
ID17	Nel CT1 si ha una notevole diminuzione della lesione. La perfusione è omogenea su l'intera regione della lesione.
ID39	Nel CT1 si ha un peggioramento della lesione dovuta a un lieve aumento dimensionale (6-7 mm) e ad un aumento dell'irregolarità del contorno (potrebbe essere presente tessuto infiammato attorno alla lesione). Inoltre, compare un versamento pleurico nella regione bassa del polmone.

ID4	Nel CT1 si ha una notevole riduzione dimensionale della lesione. La perfusione appare omogenea.
ID26	La lesione nel CT1 è rimasta invariata rispetto all'esame di <i>baseline</i> . Si nota anche un peggioramento delle condizioni del polmone.
ID8	Il tessuto neoplastico nel CT1 sembra più sottile rispetto alla Sdr della CT0.

Tabella n° 4

4.2 Tipologie di artefatti

Per ottenere dei risultati affidabili è stato necessario fare il possibile per evitare che si creassero degli artefatti nelle immagini. Gli artefatti da movimento del paziente (vedi esempio in fig n.39) sono i più comuni ed influiscono negativamente, sia sull'esecuzione dell'esame che sulla sua valutazione clinica. Tuttavia, si possono ridurre prendendo delle precauzioni durante la scansione. Le regioni anatomiche che sono maggiormente soggette ad artefatti da movimento sono: la parte bassa del torace e la parte alta dell'addome, a causa del movimento del diaframma durante la respirazione. Al fine di ridurre il più possibile il movimento della parete anteriore dell'addome durante la respirazione, è consigliabile far indossare al paziente una cintura addominale. Inoltre, è necessario, insegnare al paziente come trattenere il respiro durante le fasi più delicate dell'esame. Anche i movimenti peristaltici e la deglutizione possono produrre degli artefatti da movimento. In questi casi, è possibile intervenire somministrando al paziente degli agenti inibitori del movimento, poco prima di effettuare la scansione. Infine, per tutte le altre tipologie di artefatti da movimento, esistono appositi software di correzione in grado di rendere affidabile l'analisi TCp.

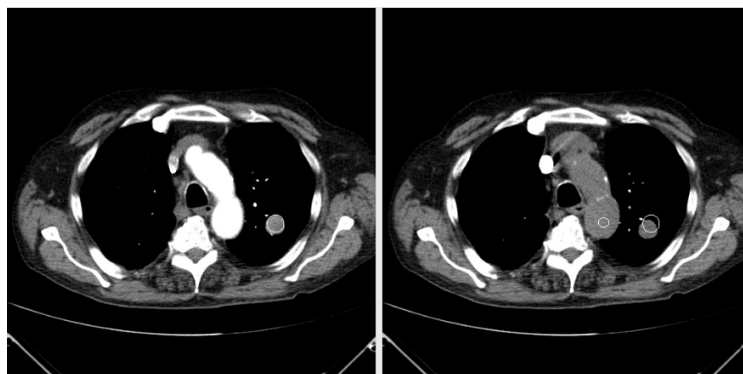


Figura 39: Esempio di artefatto da movimento lungo l'asse x.

Oltre agli artefatti da movimento, esistono altre tipologie di artefatti che si dettagliano nel seguito.

- artefatti provocati dalla macchina:

- *Scattering*: lo scatter aggiunge ai fotoni primari dei fotoni secondari, non provenienti dalla sorgente, questi determinano dei falsi conteggi nelle proiezioni, di conseguenza, un'errata ricostruzione. Maggiore è l'area del detettore utilizzato, maggiore sarà il contributo dello *scatter all' imaging* (vedi fig. n. 40)

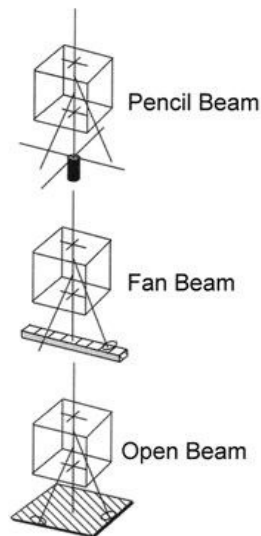


Figura 40

- *Ring artifacts*: la presenza di un *pixel* non funzionante o non ben calibrato nel rivelatore comporta, in fase di ricostruzione, la presenza di un anello nell'immagine ricostruita (vedi esempio di *ring artifacts* in fig n.41).

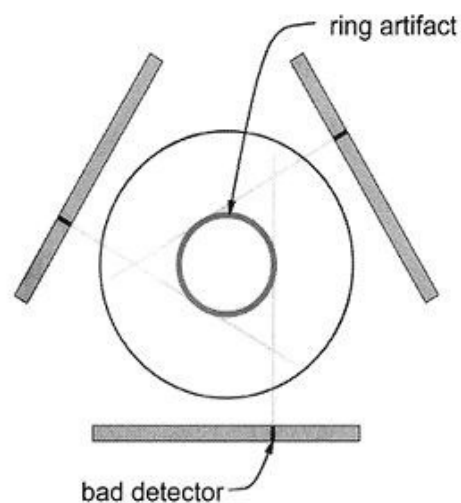


Figura 41

- artefatti da volumi parziali (vedi esempio in fig n.42).

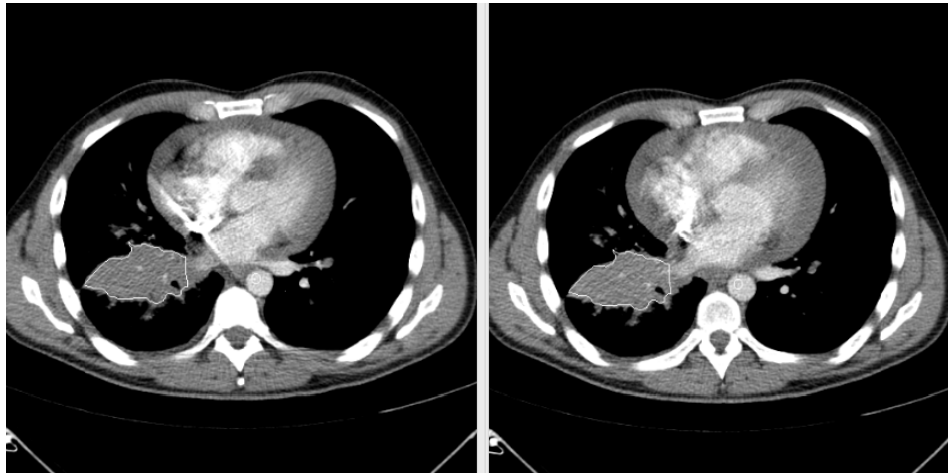


Figura 42

Gli artefatti prodotti per effetto dei volumi parziali si verificano quando nello stesso *voxel* sono contenute due strutture di densità molto diversa tra loro. Il valore di attenuazione, all'interno di tali *voxel*, corrisponde al valore medio di attenuazione dei tessuti presenti e, pertanto, può dare luogo ad immagini non rispecchianti la realtà. Gli artefatti prodotti per effetto dei volumi parziali sono spesso presenti, a livello dell'area di contatto, tra polmone ed emi-diaframma. L'unico modo per ridurne la presenza è di ricorrere all'utilizzo di *slice* più sottili che consentono di campionare meglio le varie strutture. In tal caso, tuttavia, bisogna prestare attenzione alla risoluzione dell'immagine poiché, è noto che, riducendo lo spessore della *slice*, si ha come effetto collaterale la diminuzione del rapporto: segnale - rumore.

- da *beam hardening* (vedi esempio in fig n. 43).

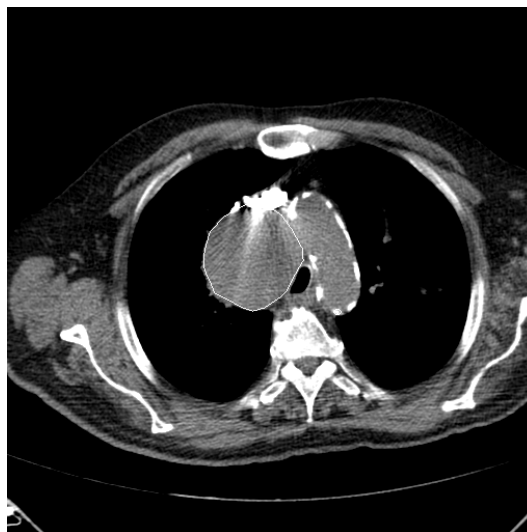
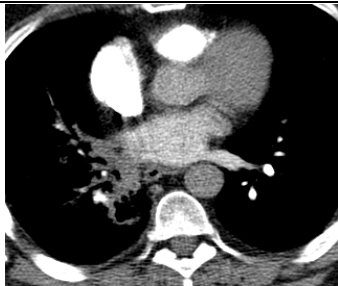


Figura 43

Come tutti i fasci di tipo medico, anche la CTP usa uno spettro policromatico. I coefficienti di attenuazione sono dipendenti dall'energia. Dopo il passaggio dei raggi X attraverso il segmento corporeo, quelli a bassa energia risultano attenuati molto di più di quelli ad alta energia. Lo spettro di uscita si deforma verso un'energia media maggiore; si dice che il fascio si "indurisce". Tale effetto produce un artefatto noto come "*beam hardening*" (indurimento del fascio). Quest'ultimo si manifesta sotto forma di strisce bianche o nere che possono oscurare le strutture anatomiche adiacenti agli oggetti ad elevata densità (come i metalli, le ossa o anche i boli di mezzo di contrasto ad elevata concentrazione). Siccome l'attenuazione dell'osso è maggiore di quella dei tessuti molli, l'osso causa un maggiore indurimento dei tessuti dello stesso spessore. Il fenomeno del *beam hardening* induce gli artefatti nella ricostruzione tomografica, poichè i raggi di alcune proiezioni sono più induriti rispetto ad altri, confondendo l'algoritmo di ricostruzione. Molti scanner includono un semplice algoritmo di correzione del *beam hardening*, basato sull'attenuazione relativa di ogni raggio. Algoritmi più sofisticati determinano la lunghezza del cammino di ogni raggio attraverso l'osso e il tessuto. In ragione dell'esistenza degli artefatti, nel catalogo è stata inserita la sezione:

- CASI NON UTILIZZABILI MA REVISIONABILI CON IL MEDICO, nella quale rientrano tutti quegli esami in cui si possono riscontrare gli artefatti prodotti sia dall'effetto dei volumi parziali che da movimento. Ma, a differenza dei casi inutilizzabili, questa casistica, attraverso accorgimenti messi in pratica dal medico radiologo, può essere riconsiderata per effettuare lo studio perfusionale. Nella seguente tabella n°5 vengono riportati 3 casi esemplificativi appartenenti a questa categoria:

Casi NON-UTILIZZABILI ma revisionabili col Medico		
ID1		La presenza di tessuto infiammato, bronchi e arteriole attorno alla lesione rende impossibile delimitare accuratamente il contorno della neoplasia.


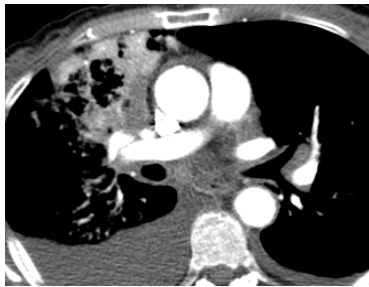
ID2		Il polmone sinistro (nel quale è situata la lesione) è completamente ricoperto da tessuto infiammato o neoplastico; è impossibile delimitare con precisione la neoplasia. Inoltre, c'è la possibilità che la lesione abbia una lunghezza sull'asse z maggiore di 5cm.
ID3		La presenza di tessuto infiammato bronchi e artefatti, attorno alla lesione, rende impossibile delimitare accuratamente il contorno della neoplasia.

Tabella n° 5

Un' altra sezione inserita alla fine del catalogo è quella dei CASI INUTILIZZABILI. Vi rientrano alcuni degli esami trattati che per motivi relativi:

- all'eccessiva riduzione della lesione,
- alla mancanza di alcuni requisiti, da parte del paziente, per l'inserimento nello studio perfusionale,
- agli artefatti,

non è stato possibile utilizzare per creare mappe colorimetriche e, quindi, catalogarli. Nella seguente tabella n°6 vengono riportati alcuni casi esemplificativi per la categoria dei casi inutilizzabili:

Casi INUTILIZZABILI	
ID1	lesione di piccola dimensione, sotto al limite consentito (vedi protocollo 162.04 istituito da IRST-IRCCS); in ogni modo, la presenza di artefatti rende le immagini inutilizzabili per lo studio perfusionale.
ID2	lesione del fegato: in questa sezione volumetrica non sono presenti lesioni nel polmone.
ID3	è presente una lesione "mista esternale", quasi sicuramente secondaria derivante da carcinoma mammario, che non rientra nei requisiti per la selezione del paziente per lo studio perfusionale (vedi

	protocollo 162.04 istituito da IRST-IRCCS).
ID4	a causa della riduzione della lesione, non è possibile utilizzarle i follow up CT1 e CT2 di questa lesione per il confronto con l'esame di baseline.
ID5	Nel caso CT0, è impossibile utilizzare l'esame a causa dell'irregolarità della curva aortica (l' <i>enhancement</i> è visibile solo nelle ultime due immagini dello <i>stack</i>). Di conseguenza, non è possibile utilizzare le informazioni provenienti dai successivi follow up CT1 e CT2.

Tabella n° 6

4.3 Ulteriori considerazioni sui casi catalogati

Funzionale alla trattazione in argomento è il contenuto dell'articolo [6]. Pubblicato a fine 2014 su una rivista internazionale, racconta il primo lusinghiero risultato raggiunto dal team, grazie alla collaborazione tra il personale medico di IRST e i ricercatori del CVG.

In questo articolo viene validato l'indice di errore μ_e , che si è rivelato essere in grado di misurare la qualità dei valori perfusionali calcolati. Tale indice viene utilizzato nel catalogo, in relazione alle mappe colorimetriche perfusionali. create con i vari allineamenti: *fixed*, *manual*, *best* e *ID*, per tutti i pazienti studiati. Sulle mappe sono stati calcolati i valori medi e di deviazione standard di μ_e . Successivamente, sono state effettuate due verifiche: la prima direttamente sull'indice di errore che, doveva ridursi al migliorare della qualità dell'allineamento, la seconda basata sulla correlazione tra l'andamento dell'indice di errore e l'indice di gradimento assegnato dai medici a ciascuna mappa perfusionale.

Nel corso dell'articolo si conferma il perfetto accordo tra quanto espresso dai medici radiologi e il risultato derivato dagli indici quantitativi di errore. Le mappe allineate mediante sequenza *best*, sono sempre risultate le migliori, sia dal punto di vista qualitativo che dal punto di vista quantitativo.

Particolarmente interessante risulta il caso ID6 che viene ampiamente discusso.

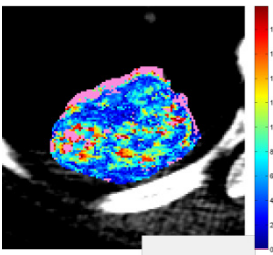
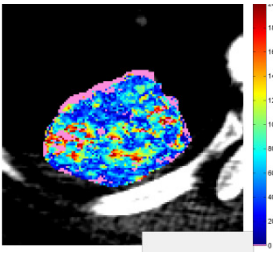
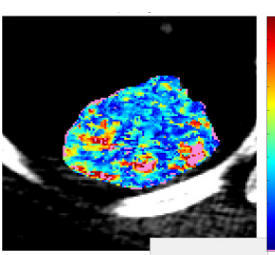
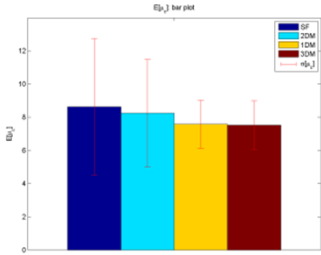
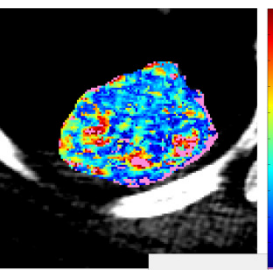
Fixed 20	$E[\mu(\epsilon)]=8.48$ $\sigma[\mu(\epsilon)]=3.47$	Manual 18	$E[\mu(\epsilon)]=8.32$ $\sigma[\mu(\epsilon)]=2.94$	Best 20	$E[\mu(\epsilon)]=7.66$ $\sigma[\mu(\epsilon)]=1.63$
					
Istogramma		1D 20	$E[\mu(\epsilon)]=7.73$ $\sigma[\mu(\epsilon)]=1.63$	Informaz. Cliniche	
				Età:78 Sesso: M FU: 0 PET: NO Tipo lesione:adk Stadio:NP	

Figura 44: Parte della tabella di catalogazione del caso ID6 (all'interno delle statistiche, paragrafo 4.1 corrisponde all'ID37)

Nella tabella n. 7 dell'articolo, rappresentata in figura n. 45, sono stati riportati entrambi gli indici in esame, relativi alle mappe di perfusione create con i diversi allineamenti (SF mappa creata con l'allineamento *fixed*, 2D mappa creata con l'allineamento *manual*, 1D mappa creata con l'allineamento *1D*, 3D mappa creata con l'allineamento *best*) raggruppati per:

- IDs (identificativo del paziente),
- $E[\mu_\epsilon]$ (media calcolata sul valor medio degli errori residui),
- $\sigma[\mu_\epsilon]$ (deviazione standard calcolata sulla media degli errori residui),
- R (il Rank, ovvero, la scala di valutazione del medico radiologo che identifica con 1, il migliore, fino ad arrivare al 4 che è il peggiore).

Alignment Procedure												
IDs	SF			2D			1D			3D		
	$E[\mu_e]$	$\sigma(\mu_e)$	R	$E[\mu_e]$	$\sigma(\mu_e)$	R	$E[\mu_e]$	$\sigma(\mu_e)$	R	$E[\mu_e]$	$\sigma(\mu_e)$	R
ID1	4.69	1.19	3	4.63	1.12	2	4.33	0.74	2	4.33	0.77	1
ID2	7.05	3.29	2	7.14	2.97	2	5.52	1.70	1	4.63	0.74	1
ID3	5.58	1.68	3	5.39	1.27	4	5.13	1.37	2	4.50	0.75	1
ID4	6.43	2.28	4	6.34	2.08	3	5.27	1.36	2	4.78	0.82	1
ID5	12.12	7.66	2	10.49	5.15	2	8.51	2.26	1	8.57	2.30	1
ID6	8.62	4.10	2	8.24	3.25	3	7.57	1.45	1	7.53	1.46	1
ID7	9.46	16.17	4	8.26	2.62	3	8.09	1.50	2	7.82	2.53	1
ID8	19.65	25.15	3	9.56	5.56	2	12.07	9.81	2	9.05	2.30	1
ID9	12.32	3.21	2	12.20	2.99	2	11.69	2.67	1	11.63	2.53	1
ID10	8.67	4.46	2	7.79	2.84	1	8.34	3.43	2	7.50	2.12	1
ID11	14.01	16.95	2	9.87	10.58	2	6.21	1.89	1	5.69	1.17	1

Figura 45: Tabella n. 7 sugli indici quantitativi e qualitativi relativi a mappe di perfusione create con i diversi allineamenti: SF (fixed), 2D (manual), 1D (1D) e 3D (best). La riga evidenziata in giallo, mostra i valori degli indici qualitativi e quantitativi legati al caso ID6 che all'interno delle statistiche, paragrafo 4.1 corrisponde all'ID 37.

Come evidenziato dalla tabella n°7, in fig. n. 45, sulla riga, evidenziata in giallo, i medici radiologi, per il caso ID6, hanno indicato con R=2 la mappa creata con l'allineamento *fixed* e con R=3 quella creata con l'allineamento *manual*. Pertanto, hanno ritenuto qualitativamente migliore la mappa colorimetrica creata con l'allineamento *fixed*, rispetto a quella creata con l'allineamento *manual*. Di converso, gli indici di errore, calcolati sulle mappe corrispondenti, hanno individuato migliore, anche se di poco, la *manual*, con indice media degli errori $E[\mu_e]=8,24$, rispetto alla *fixed* che ha una media degli errori pari a $E[\mu_e]=8,62$. Questa divergenza, probabilmente, è derivata dal fatto che i medici radiologi definiscono la perfusione, scorrendo tutte le immagini del caso in esame; mentre le mappe colorimetriche vengono create considerando la sola sequenza di riferimento o la sola sequenza *best*, senza valutare le *slice* adiacenti. Tale considerazione porta a due conclusioni importanti. La prima legata alla necessità di effettuare sempre l'allineamento best in quanto, un allineamento effettuato solo sul piano x-y, non migliora o addirittura peggiora il contenuto informativo evidenziato dalle mappe perfusionali. La seconda considerazione riguarda la necessità di affrontare lo studio del tumore considerando sempre più sezioni, al fine di avere un'idea globale della lesione e poter valutare in modo accurato la potenziale efficacia di un trattamento anti-angiogenetico.

5. Conclusioni e lavori futuri

Negli ultimi anni la TCp ha dimostrato di poter essere un valido strumento per il monitoraggio funzionale delle lesioni trattate con i nuovi farmaci anti-angiogenetici. Purtroppo, la scarsa riproducibilità dei risultati, dovuta ad innumerevoli sorgenti di variabilità, ne ostacola ancora l'impiego clinico e routinario. Il lavoro svolto dal team ha avuto come principale obiettivo quello di identificare le principali sorgenti di errore in tutte le fasi dell'esame perfusionale: dalla preparazione alla generazione e archiviazione dei dati TCp. Con la finalità di:

- fornire ai ricercatori del CVG tutto il materiale necessario per lo sviluppo e la messa a punto dell'algoritmo di calcolo degli indici perfusionali;
- fornire supporto, sia ai medici che agli ingegneri, per la messa a punto di un metodo di validazione visiva dei risultati ottenuti.

In particolare, il mio contributo, nel team di studio, si è concretizzato nel:

- lavorare alla standardizzazione del protocollo per lo svolgimento dell'esame TCp, in modo da renderlo il più possibile ripetibile per tutti i pazienti;
- applicare la procedura definita per l'archiviazione delle informazioni relative all'esame perfusionale (dai dati tecnici della macchina, fino ad arrivare ai dati relativi al paziente ed al MdC utilizzato). Operativamente, ho raccolto ed inserito tutte le informazioni degli esami perfusionali nel database, in modo da renderli facilmente reperibili e fruibili, sia da parte del personale medico che dei ricercatori del CVG;
- partecipare alla definizione di una procedura di archiviazione delle informazioni relative alla lesione (dal comportamento vascolare, alla scelta della *slice* di riferimento, sino al tracciamento delle ROI sulle varie *slice*);
- sviluppare una reportistica in grado di agevolare la gestione del grande quantitativo di dati necessari a supportare il personale medico per la creazione delle mappe colorimetriche;
- collaborare alla definizione del protocollo di analisi degli indici perfusionali, funzionale al secondo incontro programmato con i radiologi.

Grazie alla definizione dei protocolli standard ed all'implementazione delle procedure illustrate, sono state gettate le basi per:

- approfondire l'analisi sulla riproducibilità dei risultati intra- ed inter-paziente;
- attivare studi statistici sui casi perfusionali affrontati.

Nella prima parte di questo lavoro si è affermato che il tumore in generale, ma in particolare il tumore al polmone, è la prima causa di morte per cancro.

E' un killer "silenzioso", che deve le basse aspettative di vita ad una diagnosi è tardiva, causata dall'assenza di sintomi. La ricerca ha permesso di scoprire che ogni tumore polmonare presenta le proprie peculiarità, dovute alle caratteristiche genetiche del paziente.

Negli ultimi anni è cambiata la modalità di diagnosi e degli approcci terapeutici, si è allungata la sopravvivenza media (solo qualche decennio fa non superava i cinque mesi) e si è capito che, se i pazienti non sono tutti uguali, allora non possono esserlo neanche i trattamenti che ricevono. L'imperativo è: personalizzare le terapie, abbinare a ciascun paziente il miglior trattamento per il suo tumore.

Ma il superamento di protocolli standardizzati deve passare anche attraverso una focalizzazione dello studio della TCp sulle slide adiacenti, per consentire al medico radiologo di avere un'idea globale della lesione e poter valutare, in modo accurato, la potenziale efficacia di un trattamento anti-angiogenetico. In tal senso, oggi, si sta muovendo la ricerca presso l'IRST-IRCCS.

Infine, sempre nell'ottica di personalizzare le terapie, ritengo auspicabile coinvolgere nella ricerca svolta dal team anche i medici oncologi, per procedere congiuntamente ad un studio retrospettivo dei casi raccolti nel catalogo, al fine di verificare la capacità della TCp di individuare le caratteristiche morfologiche e funzionali delle neoplasie in esame (consentendone una migliore comprensione della struttura e della funzionalità tumorale) e, quindi, di validarne l'efficacia strumentale nel supporto all'oncologo, per la individuazione della terapia più efficace, in termini di risposta terapeutica del paziente, con ricadute positive sulla qualità e sull'aspettativa di vita.

6. Bibliografia

- [1] “Trattato di medicina respiratoria”. John F.Murray et Jay Nadel ,Piccin, 1995, Vol 2 pp (1409-1529).
- [2] “Tomografia computerizzata .Spirale e multistrato”,Elsevier , 2006.
- [3] “Arifacts in CT: Recognition and Avoidance”.Barrett, J.F and Keat, N.1679, RadioGraphics.
- [4] “Perfusion TC in solid-body tumours. Part I: technical issues”. Bellomi,M., et al. ,2010,Radiol Med , pp. 115:843-857.
- [5] “Perfusion TC in solid-body tumours. Part II: technical issues”. Bellomi,M., et al. ,2010,Radiol Med , pp. 115:858-874.
- [6] “Quantitative assessment of effects of motion compensation for liver and lung tumors in CT perfusion” A.Bevilacqua, D.Barone, S.Malavasi, G.Gavelli, sottomesso a Academic Radiology, 2013.
- [7] “Current status and guidelines for the assessment of tumour vascular support with dynamic contrast-enhanced computed tomography”.Miles, K.A.and Lee,T.Y.2012, European Society of Radiology.
- [8] “Perfusion CT for the assessment of tumour vascularity: which protocol? “ Br J Radiol, 2003, 76, S36-S42.
- [9] “CT perfusion in oncology: how to do it” G.Petralia, L.Bonello, S.Viotti, L.Preda, G.D’Andrea, M.Bellomi, Cancer Imaging, 2010, 10:8-19.
- [10] “Observational study of the perfusional parameters by perfusion multi-detector computed tomography (256 slices) predicting the clinical outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer”. Gavelli, G., et al. 2010, Protocol Code: IRST 162.04, Version 1.0.
- [11] "Studio delle applicazioni metodologiche di analisi di immagini in TC perfusionali". Gardini, M. 2013. Università Alma Mater Studiorum di Bologna, facoltà di ingegneria biomedica di Cesena.
- [12] “Sviluppo di algoritmi e interfaccia grafica per applicazioni in ambito medico a supporto dello studio perfusionale” Josè Silvio Falla, Tesi di Laurea Triennale in Ingegneria Elettronica, Università Alma Mater Studiorum di Bologna, 2012

[13] "Analisi automatica dei parametri della perfusione epatica attraverso la ricostruzione di immagini CT-4D" Mattia Gardini, relazione di Tirocinio Curriculare, 2010.

7. Ringraziamenti

Eccomi giunta alla fine di questa tesi ed è l'ora dei ringraziamenti.

Questi anni universitari passati a Cesena, lontano da casa, sono stati importanti, ho imparato tanto e sento di essere maturata molto.

Sono tante le persone che ho incontrato nel percorso, le amicizie che ho coltivato, i rapporti che ho stretto.

Voglio, quindi, dedicare queste ultime pagine a ringraziare tutti, sperando di poter raggiungere nuovi traguardi con tutti ancora al mio fianco.

In primo luogo, ringrazio la mia famiglia che mi è sempre stata accanto, incoraggiandomi.

Un grazie speciale lo voglio fare a te mamma che sei per me e Pierluigi la stella polare, il porto sicuro in cui rifugiarci nei momenti difficili. Grazie per i tuoi preziosi consigli, ma grazie, soprattutto, per avere sempre rispettato le mie scelte, anche quando non coincidevano con quello che tu ritenevi fosse giusto. Ti ringrazio mamma perché ci hai educato ai valori fondamentali, al pensiero libero da compromissioni, ma non ci hai mai imposto niente.

Grazie a Nonna Titina, la più dolce e cara delle nonne. Mi hai cresciuta e solo grazie al tuo amore, al tuo sostegno ed al tuo proverbiale ottimismo che oggi riesco ad affrontare la vita in modo positivo e con speranza.

Grazie a te Simone, amore della mia vita, che in questi anni mi hai sostenuto con tenerezza e molta pazienza. Spesso ci ha divisi la lontananza, ma sei sempre nel mio cuore.

Grazie a te Fratellino. Sì! Qualche volta litighiamo, ma so che tu per me ci sei e ci sarai sempre; come io ci sono e ci sarò sempre per te.

Desidero esprimere un ringraziamento particolare al Professore Alessandro Bevilacqua che con i suoi insegnamenti, ha reso il mio tirocinio presso l'IRST-IRCCS prezioso. Con altrettanta gratitudine mi rivolgo all'Ing Silvia Malavasi che, oltre ad essere la correlatrice attenta della mia tesi, è diventata una mia cara amica. Grazie a Mattia Gardini, caro amico lontano, che mi ha supportato nell'inserimento al tirocinio, rendendomi sempre piacevole il tempo trascorso assieme.

Ringrazio il Prof. Giampaolo Gavelli e il Dott. Domenico Barone, assieme a tutti i radiologi-tecnici e i radiologi-infermiere-anestesiste della U.O diagnostica per l'immagine dell'IRST, che mi hanno accolto con simpatia e sono sempre stati disponibili e professionali.

Grazie a Gaia Gardella e a Serena Baiocco, bellissima scoperta di questi ultimi mesi e, oggi, amiche inseparabili.

Grazie a Carlotta Sapignoli, Chiara Moretti e Mariella Grassi, le mie prime amiche a Cesena, per avermi sostenuta, compresa e soprattutto amata come una sorella.

Grazie a tutti gli amici che non ho nominato, e sono tanti, ma siete parte della mia vita e vi porto nel cuore.

Vorrei infine, volgere un pensiero d'affetto a tutti i pazienti, trattati nel catalogo, forse non sono più tra noi ma, è giusto riconoscere che il loro assenso ha permesso lo svolgimento dello studio e il progredire della ricerca. Grazie! Spero siate nella pace.